



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

**El efecto del tabaco sobre el metabolismo óseo y su
relación con los pacientes EPOC**

**The effect of tobacco on bone metabolism and its
relationship with COPD patients**

Autora: Dña. María del Carmen Vega García-Puente

Director/es: Carlos Amado Diago

María Teresa García Unzueta

Santander, Junio 2019

INDICE

RESUMEN	6
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	7
1.ENFERMEDAD PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÓNICA.....	7
1.1 DEFINICIÓN Y CARÁCTERÍSTICAS GENERALES	7
1.2 PATOGENIA.....	8
1.3 CLÍNICA	8
1.4 DIAGNÓSTICO.....	9
1.5 TRATAMIENTO.....	11
1.6 PRONÓSTICO	12
2.FISIOLOGÍA DEL METABOLISMO ÓSEO	12
2.1. REGULACIÓN HORMONAL DE LA REMODELACIÓN ÓSEA	12
2.2 METABOLISMO FOSFOCÁLCICO	13
2.3 REGULACIÓN HORMONAL DEL METABOLISMO ÓSEO	15
3.ANÁLISIS DEL METABOLISMO ÓSEO	17
3.1 FOSFATASA ALCALINA ÓSEA	18
3.2 MARCADORES DERIVADOS DEL COLÁGENO TIPO 1.....	19
4.METABOLISMO FOSFOCÁLCICO EN LA EPOC	20
HIPÓTESIS.....	23
OBJETIVOS.....	23
1. OBJETIVO GENERAL.....	23
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
MATERIAL Y MÉTODOS	24
1.DISEÑO DEL ESTUDIO	24
2.SELECCIÓN DE PACIENTES.....	24
2.1 GRUPOS CLÍNICOS	25
3.RECOGIDA DE DATOS	25
4.DETERMINACIONES ANALÍTICAS.....	26
5.ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS.....	27
RESULTADOS.....	28
1. CORRELACIONES TOTALES CON VARIABLES DE LA EPOC.....	30
2. DIFERENCIAS EN LOS NIVELES DE LAS DISTINTAS VARIABLES DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCICO EN LOS DISTINTOS GRUPOS CLÍNICOS DE LA EPOC.....	33
3. DIFERENCIAS ENTRE FUMADORES Y NO FUMADORES	34
4. CORRELACIONES TOTALES CON LAS VARIABLES CLÍNICAS	36

DISCUSIÓN 37

LIMITACIONES DEL ESTUDIO 40

FORTALEZAS DEL ESTUDIO 40

CONCLUSIONES..... 41

AGRADECIMIENTOS..... 42

ANEXOS 43

BIBLIOGRAFÍA 49

LISTADO DE ABREVIATURAS

- ALT: alanina aminotransferasa.
- BODE: índice basado en: Body mass index, airflow Obstruction, Dysnea and Exercise capacity index; determina el pronóstico de la EPOC.
- CAT: COPD Assessment Test; cuestionario sobre calidad de vida.
- COC: relación FEV1/FVC.
- CTX: telopéptido del colágeno tipo 1.
- DBP: proteína transportadora de vitamina D.
- ELISA: inmunoensayo de doble anticuerpo.
- EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica.
- FA: fosfatasa alcalina.
- FAO: isoenzima óseo de la fosfatasa alcalina.
- FEV1: volumen espiratorio forzado en el primer segundo.
- FFMI: índice de masa magra.
- FGF23: factor 23 de crecimiento fibroblástico.
- FVC: capacidad vital forzada.
- GGT: gamma glutamil transpeptidasa.
- IMC: índice de masa corporal.
- IPA: índice paquetes-año.
- LABA: broncodilatadores de acción larga β_2 -agonistas.
- LAMA: broncodilatadores de acción larga anticolinérgicos.
- mMRC: Medical Research Council modificada.
- OB: osteoblastos.
- OC: osteoclastos.
- OPG: osteoprotegerina.
- PCR: proteína C reactiva.
- PTH: hormona paratiroidea.

- PTHrP: proteína relacionada con la hormona paratiroidea.
- PINP: propéptido aminoterminal del procolágeno tipo 1.
- RANK: receptor activador del factor nuclear – κ B.
- RANKL: ligando del receptor activador del factor nuclear – κ B.
- Vit. D: vitamina D.
- VDR: receptor de vitamina D.

RESUMEN

Introducción: La osteoporosis supone una importante comorbilidad en los pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica debido a los efectos sistémicos de la propia enfermedad, la limitación del ejercicio, el uso de glucocorticoides y el tabaquismo. El objetivo de este estudio es explorar el efecto del tabaco en los niveles de parámetros relacionados con el metabolismo de los minerales y su asociación con determinadas variables clínicas en los pacientes con EPOC.

Método: estudio observacional en el que se compararon los niveles séricos de vitamina D, hormona paratiroidea, fosfatasa alcalina, calcio, albúmina, telopéptido del colágeno tipo 1 y propéptido aminoterminal del procolágeno tipo 1 de exfumadores y fumadores con EPOC. Los grupos de comparación fueron emparejados por edad, sexo, estación del año, volumen espiratorio forzado en el primer segundo y número de exacerbaciones en el último año. En ambos grupos se excluyeron casos con procesos patológicos o tratamientos que se sabe que interfieren con el metabolismo de los minerales.

Resultados: 131 pacientes con EPOC fueron incluidos en el estudio, 60 pacientes en cada grupo. Las distintas variables clínicas de la EPOC se correlacionan con distintas variables del metabolismo mineral óseo. Los niveles de vitamina D difieren entre el grupo de fumadores y exfumadores.

Conclusiones: el metabolismo mineral óseo depende de la clínica de los pacientes con EPOC y de su hábito tabáquico.

Palabras clave: EPOC, hueso, remodelado óseo, tabaquismo.

ABSTRACT

Background: osteoporosis is a mayor comorbidity in COPD patients due to systemic effects of the own disease, exercise limitation, use of glucocorticoids and smoking. The aim of this study is to explore the effect of smoking in levels of parameters, related to mineral metabolism.

Methods: an observational study is conducted comparing the serum levels of a number of analytical variables involved in the bone metabolism of ex-smokers and smokers with COPD. Comparison groups were matched base don clinical parameters. Both groups excluded cases with pathological processes or treatments known to interfere with mineral metabolism.

Results: 131 COPD patients were included in the study, 60 patients in each group. The different clinical variables of COPD correlate with different variables of bone mineral metabolism. Vitamin D levels differ between smokers and ex-smokers.

Conclusion: bone mineral metabolism depends on the clinic of COPD patients and their smoking habit.

Key words: COPD, bone, bone remodeling, smoking.

INTRODUCCIÓN

1. ENFERMEDAD PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÓNICA

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) representa un desafío importante para la salud pública siendo una causa importante de mortalidad y morbilidad.¹ La prevalencia de la EPOC en España es aproximadamente del 10% en pacientes entre 40 – 80 años. Se trata de la cuarta causa de muerte a nivel mundial pero se prevé que llegue a ser la tercera en el año 2020. Más de 3 millones de personas fallecieron a causa de la EPOC en 2012, lo cual supone un 6% del total de muertes mundiales. Las proyecciones indican que la carga de la EPOC aumentará debido a la exposición continuada a los factores de riesgo de esta enfermedad y al envejecimiento de la población.²

1.1 DEFINICIÓN Y CARACTERÍSTICAS GENERALES

La EPOC es una enfermedad frecuente, prevenible y tratable, caracterizada por una limitación persistente al flujo aéreo, normalmente progresiva e irreversible. Esta enfermedad pulmonar está asociada a una respuesta inflamatoria acentuada y crónica de las vías respiratorias y los pulmones ante la exposición a partículas o gases nocivos.

El número de exacerbaciones junto con las comorbilidades asociadas al sujeto, contribuyen a la gravedad general en cada paciente de manera individual.³

Además, es importante tener en cuenta dos conceptos que mantienen una estrecha relación con el tabaco y son difíciles de separar en un enfermo. En algunos predomina algún cuadro sobre otro, pero generalmente, suelen concomitar los tres.

- Enfisema pulmonar: aumento de tamaño de los espacios aéreos más allá del bronquiolo terminal, con destrucción de tejido alveolar.
- Bronquitis crónica: tos y expectoración durante 3 meses al año, por lo menos durante 2 años seguidos sin que pueda atribuirse a otras causas.⁴

El principal agente etiológico en nuestro medio es el tabaco, pero éste no es el único, ya que es posible el desarrollo de esta enfermedad en sujetos no fumadores. Sin embargo, los no fumadores tienen menos síntomas, una afectación más leve y una disminución de la inflamación sistémica. Además, los sujetos no fumadores con limitación del flujo no tienen un incremento del riesgo de padecer cáncer de pulmón o eventos cardiovasculares comparado con el grupo de individuos sanos, aunque si se ha demostrado que tienen mayor riesgo de padecer neumonía y de fallecer por un fallo respiratorio.⁵

A nivel mundial la primera causa es la exposición al humo de la biomasa. También consideramos como factores de riesgo la marihuana, el tabaquismo pasivo, pipa, puro y la contaminación atmosférica ambiental.⁶⁻¹⁰

La EPOC se produce a consecuencia de una interrelación entre la exposición acumulativa a gases y partículas nocivos junto a diversos factores del huésped (genéticos, desarrollo pulmonar en la infancia).

Por lo tanto, a continuación veremos algunos de los factores más relacionados con el desarrollo y progresión de la enfermedad³:

- Tabaquismo: por su influencia en el desarrollo de la enfermedad es importante conocer la edad de inicio y el hábito actual.
- Factores genéticos: déficit severo hereditario de alfa-1-antitripsina, favorece la aparición de enfisema pulmonar
- Edad y sexo: la edad avanzada y el sexo femenino se asocian a un incremento del riesgo de padecer EPOC.
- Crecimiento y desarrollo pulmonar: cualquier factor que afecte al crecimiento pulmonar durante la gestación y/o infancia puede aumentar el riesgo de un individuo de desarrollar una EPOC. La reducción de la capacidad máxima pulmonar puede ser indicador del riesgo.
- Estado socioeconómico: cuanto menos sea el nivel socioeconómico mayor morbi-mortalidad.
- Hiperreactividad bronquial y asma.
- Antecedentes de infecciones respiratorias.
- Polución atmosférica, no está del todo claro, se cree que interviene más en el desarrollo de agudizaciones que en el de la propia enfermedad.

1.2 PATOGENIA

Un agente irritante llega a los pulmones y genera una cascada inflamatoria mediada por linfocitos T CD8, neutrófilos y macrófagos. También actúa el estrés oxidativo y un desequilibrio del sistema proteasa-antiproteasa por la acción inflamatoria.

1.3 CLÍNICA

- Grado de disnea según la escala de disnea del Medical Research Council modificado (Mmrc).¹¹ Es una escala que puntúa del 0 al 4 en función del grado de disnea. El grado 0 corresponde a pacientes que no tienen disnea en ninguna ocasión; el grado 1 es equivalente a la disnea que se produce al subir un tramo de escaleras; el grado 2 hace referencia a pacientes que refieren disnea al caminar en llano; el grado 3 es la disnea al caminar 100 metros y, el grado 4 disnea en reposo.¹

Según las guías GOLD, un paciente se considera disneico cuando tiene un nivel de disnea igual o mayor a 2.

- Tos.
- Producción de esputo.
- Exacerbaciones respiratorias, episodio agudo caracterizado por agravamiento de los síntomas respiratorios que precisa un cambio en la medicación habitual. Se dividen según su gravedad en leves: si para su resolución solo precisan de tratamiento con broncodilatadores de rescate. Moderadas: si para su resolución requieren de tratamiento con antibioterapia y/o corticoides sistémicos. Graves: si requieren de ingreso para su resolución.^{1,3}

Las agudizaciones o exacerbaciones son en un 70% de origen infeccioso; 70% de etiología bacteriana (neumococo, haemophilus, moraxella) y el 30% restante es debido a procesos víricos (influenza, parainfluenza, Virus Respiratorio Sincitial). El otro 30% se corresponde a otras causas¹²⁻¹⁴ (contaminación, medicación inadecuada, incumplimiento terapéutico...).

Para distinguir una infección de origen bacteriano existen los criterios de Anthonisen¹⁵:

1. Aumento de disnea.
2. Aumento del volumen del esputo.
3. Purulencia del esputo.

La presencia de los dos primeros o, la presencia únicamente del esputo purulento nos indican que estamos ante una infección bacteriana.

1.4 DIAGNÓSTICO

Para el diagnóstico de la EPOC es esencial la espirometría con un cociente entre volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁) y la capacidad vital forzada (FVC) < 70 % y el test broncodilatador negativo.

Existen una serie de variables a tener en cuenta a la hora de establecer la gravedad de la EPOC³:

- Espirometría; en pacientes con un valor de FEV₁/FVC < 0,70:
 - GOLD 1: leve – FEV₁ ≥ 80%.
 - GOLD 2: moderada – 50% ≤ FEV₁ < 80%.
 - GOLD 3: grave – 30% ≤ FEV₁ < 50%.
 - GOLD 4: muy grave – FEV₁ < 30%.

- Grado de disnea mMRC.
- CAT: COPD Assessment Test; cuestionario sobre calidad de vida¹¹, administrado y realizado previo a la visita. Este cuestionario es de uso habitual en la práctica clínica ya que nos ayuda a clasificar a los pacientes según su sintomatología. Consta de 8 preguntas, cada una de las cuáles hace referencia a un síntoma relacionado con la enfermedad (esputo, dolor torácico, tos, disnea, dificultad para conciliar el sueño, dificultad para salir de casa, dificultad para realizar tareas del hogar, pérdida de energía). Los pacientes darán una puntuación entre 0 y 5 (0 corresponde a la ausencia de la sintomatología y 5 equivale a la máxima afectación de cada síntoma). Por lo tanto, la mínima puntuación posible será de 0 mientras que 40 será la máxima. Se consideran sintomáticos aquellos pacientes con sintomatología igual o superior a 10, y además se benefician de manera más clara del tratamiento con broncodilatadores de acción larga.
- Criterios clínicos de bronquitis crónica.
- Número de agudizaciones en el último año.
- Ingresos por EPOC (infección respiratoria/agudización).

Con estas variables clínicas se determina el tratamiento más adecuado.

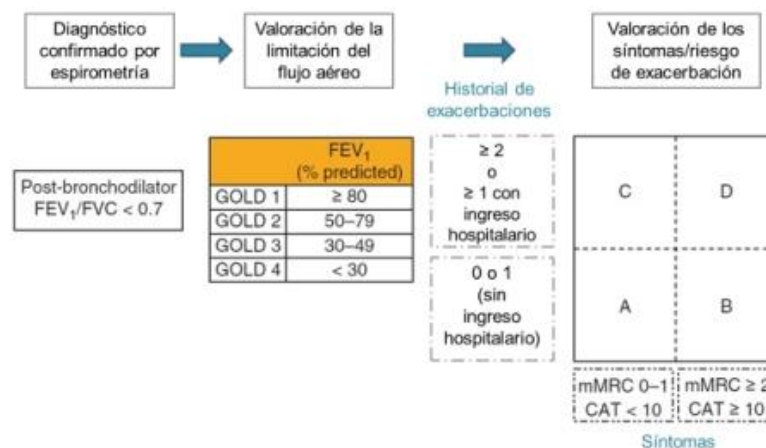


Figura 1. Clasificación de los pacientes con EPOC según las guías GOLD 2017.¹

A: pocos síntomas y poco riesgo de exacerbaciones. Broncodilatadores.

B: muchos síntomas y poco riesgo de exacerbaciones. Más broncodilatadores.

C: pocos síntomas y mucho riesgo de exacerbaciones. Broncodilatadores y antiinflamatorios.

D: muchos síntomas y mucho riesgo de exacerbaciones. Más broncodilatadores y más antiinflamatorios.

1.5 TRATAMIENTO

Dentro del tratamiento de la EPOC son fundamentales una serie de medidas tanto generales como farmacológicas:

- Medidas generales:

Deshabitación tabáquica: La deshabitación tabáquica es la medida principal en el manejo de la EPOC, ya que la cesación tabáquica supone la única medida capaz de frenar la progresión de la enfermedad¹⁶ y aumentar la supervivencia. Tanto los tratamientos farmacológicos (bupropión, vareniclina, parches de nicotina...) como los no farmacológicos (entrevista motivacional) han demostrado ser útiles para aumentar la tasa de deshabitación.¹⁷

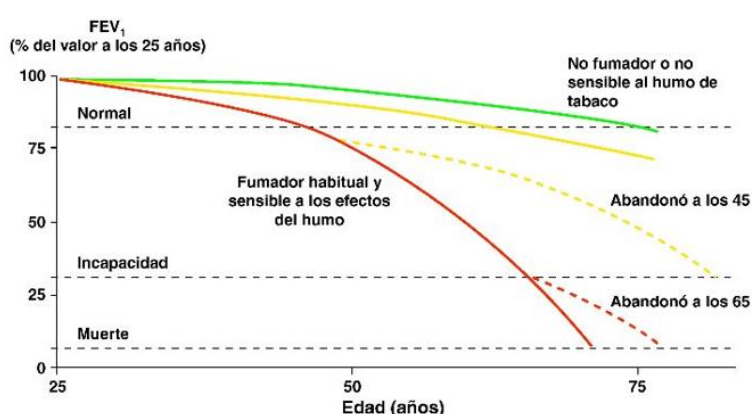


Figura 2. Deshabitación tabáquica-modificación historia natural de la enfermedad.¹⁶

Vacunación: las guías nacionales e internacionales de manejo de la EPOC recomiendan el uso de la vacuna antigripal estacional y las vacunas contra la infección neumocócica, tanto la conjugada como la 23-Valente.^{1,3}

Actividad física: los pacientes con EPOC tienen baja actividad física.¹⁸ Este es un factor de mal pronóstico de la enfermedad. La realización de actividad física mejora la calidad de vida, disminuye los ingresos y la mortalidad de los pacientes con EPOC^{19,20}, por lo que debe ser recomendada de manera activa por los profesionales sanitarios.

Fisioterapia respiratoria: la fisioterapia respiratoria influye de manera significativa en la calidad de vida de la enfermedad, actuando sobre todo en síntomas como las secreciones respiratorias.²¹

- Medidas farmacológicas:

El tratamiento farmacológico de mantenimiento de la EPOC se fundamenta en el uso de dos tipos de terapias farmacológicas: los broncodilatadores y los antiinflamatorios.

Los broncodilatadores son los broncodilatadores de acción larga anticolinérgicos (LAMA) y los broncodilatadores de acción larga β_2 -agonistas (LABA). Siempre se administran por vía inhalada o nebulizada. Estos fármacos se caracterizan por mejorar la disnea y la

calidad de vida de los pacientes con EPOC. Se utilizan fundamentalmente en los grupos A y B de las guías GOLD.

Los antiinflamatorios pertenecen a varios grupos terapéuticos distintos y, a diferencia de los broncodilatadores, se pueden administrar por vía inhalada, oral o intravenosa. Los antiinflamatorios que se usan como tratamiento de mantenimiento en la EPOC son los corticoides inhalados, los macrólidos, la n-acetil-cisteína y el roflumilast. Estos fármacos se utilizan para prevenir agudizaciones en los pacientes con alto riesgo de agudización (grupos GOLD C y D).

1.6 PRONÓSTICO

El índice BODE (Body mass index, airflow Obstruction, Dysnea and Exercise capacity index) es el más utilizado para estimar el pronóstico de la EPOC. Este índice tiene en cuenta 4 variables que representan los factores pronósticos más importantes de la enfermedad. El grado de disnea basal, el grado de obstrucción espirométrica, el índice de masa corporal, y la capacidad de ejercicio estimada por el test de marcha de 6 minutos.²² Este índice se usa en la práctica clínica para determinar qué pacientes son candidatos a trasplante de pulmón u otros tipos de terapias. Por otra parte, la baja actividad física²³ y la sarcopenia²⁴, son importantes predictores de mortalidad, aunque por el momento no se suelen utilizar en la práctica clínica.

2. FISIOLOGÍA DEL METABOLISMO ÓSEO

2.1. REGULACIÓN HORMONAL DE LA REMODELACIÓN ÓSEA

El hueso es un tejido conectivo formado por la matriz extracelular mineralizada y células especializadas –osteoblastos, osteocitos y osteoclastos- encargadas de la formación y destrucción ósea.²⁵

El colágeno tipo 1 es el principal componente orgánico de la matriz y supone el 90%; el 10% restante está formado a partir de proteínas no estructurales de menor tamaño, tales como la osteocalcina, osteonectina, fosfoproteínas, sialoproteínas, factores de crecimiento y proteínas séricas. La fase inorgánica está compuesta por cristales de hidroxiapatita.²⁵

Los osteoblastos son células derivadas de progenitores mesenquimales presentes en la médula ósea. Estas células situadas en las superficies óseas, se encargan de segregar y mineralizar paquetes de matriz ósea. Además, expresan fosfatasa alcalina (FA), enzima que mediante la liberación de fosfato inorgánico contribuye a la mineralización de la matriz.²⁶

Los osteoclastos derivan de precursores mononucleares presentes en la médula ósea y en la sangre circulante. Son células destructoras de hueso, que una vez adheridas a la superficie ósea, llevan a cabo su función a través de la segregación de hidrogeniones y enzimas proteolíticas encargados de la disolución de la mineralización y la degradación del colágeno respectivamente.²⁶

El hueso es un tejido muy activo y durante la vida adulta, los huesos están en un proceso continuo de remodelación ósea. Los osteoclastos van a reabsorber la matriz mineralizada que más tarde será sustituida por laminillas de hueso nuevo formadas por acción de los osteoblastos. En condiciones normales y durante las primeras etapas de la vida adulta, este proceso, coordinado en tiempo y espacio, no conlleva a la pérdida de masa ósea, más bien mantiene la masa esquelética total invariable. Esto no pasa en los ancianos o en individuos con determinadas patologías. En estos últimos se produce un predominio de la resorción frente a la formación ósea con alteración de la estructura ósea.^{25, 26}

2.2 METABOLISMO FOSFOCÁLCICO

Aunque en la regulación de la homeostasis mineral intervienen numerosos órganos y hormonas, los principales son el intestino, el riñón y el hueso, sobre los que actúan las hormonas calciotropas, hormona paratiroidea (PTH), vitamina D y calcitonina, modulando la absorción, eliminación y depósito de manera que se mantengan unos niveles séricos constantes.

2.2.1. Metabolismo del calcio

El calcio se considera el catión más abundante del organismo. Aproximadamente unos 1000 gramos de calcio en un adulto, lo que supone un 99% del calcio corporal total, se encuentra en la fase mineral del hueso en forma de hidroxapatita. El 1% restante se distribuye equitativamente entre los líquidos intra y extracelular.^{27, 28}

El calcio extracelular es el principal sustrato para la mineralización del cartílago y el hueso, pero también sirve como cofactor para una gran cantidad de enzimas extracelulares, e interviene en una gran diversidad de procesos celulares, como la automaticidad nerviosa y muscular, la contracción del músculo cardíaco, esquelético y liso, la neurotransmisión y varias formas de secreción exocrina y endocrina.²⁷

Los niveles de calcio plasmático oscilan entre 2.2 – 2.6 mmol/L (8.8 – 10.4 mg/dL). En el plasma se encuentra en un 50% como calcio iónico libre, en un 10% ligado a aniones y en un 40% ligado a proteínas, especialmente a albúmina y globulinas.²⁹

La absorción de calcio aumenta en los períodos de crecimiento rápido de los niños, en el embarazo y en la lactancia. Por el contrario, en la edad avanzada disminuye.

2.2.2 Metabolismo del fósforo

La concentración de fósforo en el organismo es de aproximadamente 600 gramos. El fosfato está ampliamente distribuido en los tejidos no óseos en comparación con el calcio. El 85% del fosfato se encuentra en la fase mineral del hueso, y el resto en una forma orgánica o inorgánica en los compartimentos extracelulares e intracelulares. Solamente un 10% del fosfato en plasma circula unido a proteínas, por lo tanto, la mayoría del fosfato del organismo es susceptible de ser filtrado.²⁶

Absorción intestinal

En condiciones fisiológicas la absorción del fosfato es lineal con el contenido de fósforo ingerido en la dieta. Dicha absorción está estimulada por la vitamina D.

Fósforo a nivel renal

El riñón juega un papel fundamental en la homeostasis de los fosfatos. Más del 85% del fosfato filtrado es reabsorbido a nivel del túbulo proximal principalmente, vinculado al transporte sodio/potasio y a un cotransporte sodio/fósforo.³⁰

Diversos estudios han demostrado que el factor 23 de crecimiento fibroblástico (FGF23), que se expresa fundamentalmente en el hueso, tiene una función importante en la regulación de los fosfatos. El FGF23 es una proteína de aproximadamente 30 kD que es procesada a un fragmento N- terminal de 18 kD y un fragmento C-terminal de 12 kD. El dominio de unión de receptores del FGF23 está presente en el N-terminal.³¹

A nivel renal esta hormona del osteocito suprime la expresión de los cotransportadores sodio-dependientes ya sea directamente, como lo demuestran los estudios in vitro³² o a través de la actividad de la PTH, que induce la excreción de fosfato urinario al reducir la actividad de dichos cotransportadores.³³

Además, FGF23 disminuye la concentración circulante de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ por dos mecanismos, por una parte disminuye la expresión de la enzima 1- α -hidroxilasa y por otra parte aumenta la expresión de la enzima 24-hidroxilasa, enzima clave para la inactivación de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.²⁹ La concentración circulante de FGF23 se incrementa con el fósforo dietético, el fósforo sérico y la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.³⁴

Fósforo a nivel óseo

Para conseguir una correcta mineralización ósea es necesaria una adecuada concentración sérica de fósforo. El hueso actúa como depósito del fósforo, sin embargo, gracias al fósforo de la dieta, el fosfato óseo no es indispensable. Valores de fósforo por debajo de su rango normal (1,5-2 mg/dl) dan lugar a trastornos de mineralización.²⁶

Balance de fosfatos

La principal regulación se establece entre la ingesta y las pérdidas renales.

La elevación de la fosfatemia estimula la secreción de PTH e inhibe la 1- α -hidroxilasa – disminuyendo así la síntesis de 1,25(OH)₂ vitamina D y, por tanto, su absorción intestinal y posterior reabsorción renal.

2.2.3 Metabolismo del magnesio

El magnesio se localiza fundamentalmente a nivel intracelular. Solamente el 1% del magnesio corporal total se encuentra circulando en el plasma frente al 70% que está en el tejido óseo mineralizado. De la misma manera que el fósforo, la absorción del magnesio también es directamente proporcional al contenido aportado en la dieta. A diferencia de los anteriores, su absorción no está regulada por la vitamina D. El riñón es el responsable de mantener los niveles de magnesio en un rango óptimo ya que, a pesar del carácter ultrafiltrable del magnesio, un 95% es reabsorbido a nivel del túbulo renal^{27,28}.

2.3 REGULACIÓN HORMONAL DEL METABOLISMO ÓSEO

La homeostasis del calcio y el fósforo está regulada por tres hormonas que ejercen sus acciones en el intestino, el riñón y el hueso.

2.3.1 Hormona paratiroidea

Las glándulas paratiroides producen la PTH que es fundamental, junto con la vitamina D y la calcitonina, en la homeostasis de calcio y fósforo y en los procesos de remodelación del tejido óseo.

La hormona paratiroidea es un polipéptido de 84 aminoácidos que se origina a partir de la pre-proPTH y la pro-PTH. Su porción aminoterminal es esencial para que sea biológicamente activa.

El principal regulador de la secreción de PTH es el calcio ionizado en sangre, de manera que un aumento de calcio ionizado conduce a una disminución de la secreción de PTH. Incrementos del calcio extracelular producen incrementos del calcio libre intracelular en las células paratiroides, provocando la activación de las proteasas sensibles al calcio de las vesículas secretoras. El aumento del calcio extracelular también reduce la liberación de gránulos de PTH almacenados en las vesículas secretoras. Descensos del calcio ionizado que se mantienen en el tiempo, como dietas deficitarias de calcio o resistencia a la PTH, producen un incremento del ARN mensajero de la PTH y también del número de células paratiroides.³⁵

La forma activa de la vitamina D, 1,25 (OH)₂ vitamina D, no tiene un efecto directo en la secreción de PTH, pero suprime de forma importante la transcripción del gen de la PTH.

La secreción de PTH se metaboliza en el hígado (70%) y en el riñón (20%) y tiene una semivida de entre dos y cinco minutos. Este rápido metabolismo periférico no resulta afectado por la concentración variable de calcio sanguíneo o de 1,25 (OH)₂ vitamina D.

Menos del 1% de la hormona segregada se une a los receptores de PTH en los órganos diana.²⁹

Acciones de la PTH:

1. Estimulación de la reabsorción de calcio.
2. Inhibición del transporte de fosfato en el túbulo proximal.
3. Estimulación de la síntesis de $1,25(\text{OH})_2$ vitamina D en el túbulo proximal.

2.3.2. Vitamina D

La vitamina D_3 se produce en la piel a partir del 7-dehidrocolesterol por irradiación ultravioleta, que rompe el anillo B para formar pro-vitamina D_3 . La pro-vitamina D_3 se isomeriza a vitamina D_3 y ésta entra en la circulación. Otra forma que tenemos los seres humanos de incorporar la vitamina D al organismo, es a través de la ingesta dietética, ya sea en forma de vitamina D_2 o ergocalciferol, procedente de las plantas, o derivado del colesterol animal en forma de vitamina D_3 . De lo que ingerimos en la dieta solamente el 50% es absorbido, por lo que la principal vía de adquisición de vitamina D es a través de la radiación solar.³⁶

Una vez en el torrente sanguíneo, la vitamina D circula en su mayoría unida a la proteína transportadora (DBP), y en menor medida unida a la albúmina.

La vitamina D unida a la DBP es transportada al hígado donde es metabolizada por las enzimas tipo citocromo p450 a 25-OH-vitamina D, metabolito circulante más abundante y con una vida media prolongada (2-3 semanas). Este metabolito es el que indica el índice de status nutricional en vitamina D. El paso final en la producción de la hormona activa es la $1\text{-}\alpha$ -hidroxilación de 25-OH-vitamina D a $1,25(\text{OH})_2$ vitamina D, a nivel del túbulo contorneado proximal. Esta hormona tiene una semivida corta (6-8h) y es la principal forma hormonal de la vitamina D y la responsable de la mayoría de sus acciones biológicas.^{36,37}

La actividad de la $1\text{-}\alpha$ -hidroxilasa está estrechamente controlada, a diferencia de la conversión a 25-OH-vitamina D que no tiene regulación. Es estimulada por la hormona paratiroidea (PTH) e inhibida por el calcio, el fosfato y el FGF23.

También existe una producción extrarrenal de $1,25(\text{OH})_2$ vitamina D en la cual intervienen las citoquinas (interferón gamma y TNF) en lugar de ser estimulada por la PTH y, además, el calcio y el fósforo no van a conseguir una inhibición tan eficaz en este caso. La $1,25(\text{OH})_2$ vitamina D reducirá sus propios niveles, disminuyendo la producción y aumentando su catabolismo.³⁸

A nivel del túbulo renal fundamentalmente, se expresa la enzima 24 hidroxilasa que es la responsable de la hidroxilación de la 25-OH-vitamina D y de la $1,25(\text{OH})_2$ vitamina D en la posición 24 de la molécula, dando lugar respectivamente a la $24,25 (\text{OH})_2 \text{D}$ y $1,24,25 (\text{OH})_3 \text{D}$ que previamente se pensaba que eran isoformas de vitamina D

inactivas, pero hoy se sabe que tienen acciones biológicas específicas, sobre todo en el hueso.

Acciones biológicas de la vitamina D

La 1,25(OH)₂ vitamina D ejerce sus funciones biológicas por su unión al receptor de la vitamina D (VDR) que se distribuyen ampliamente por los diferentes tejidos lo que justifica la variedad de acciones del 1,25(OH)₂ vitamina D en el organismo.

Las acciones de la vitamina D se pueden diferenciar en clásicas, regulación del metabolismo fosfocálcico y de la remodelación ósea, y acciones no clásicas

Dentro de las funciones clásicas, la función principal de la 1,25(OH)₂ vitamina D consiste en mantener estables las concentraciones plasmáticas de calcio y fósforo. Ello lo consigue mediante su actuación a diferentes niveles:³⁷⁻⁴⁰

- Tracto gastrointestinal: a través de la estimulación de la expresión del transportador del calcio y la proteína fijadora de calcio (calbindina) potencia la absorción de calcio, sobre todo a nivel duodenal y del yeyuno y también la absorción de fósforo.
- Hueso: aunque la acción sobre el hueso no es tan conocida, se sabe que es capaz de promover tanto la formación como la resorción ósea; el 1,25(OH)₂ vitamina D actúa por un lado sobre los receptores VDR situados en la superficie de los osteoblastos promoviendo su diferenciación, y por otro lado estimulando en las membranas celulares estimulando la expresión del ligando de RANK (RANKL - molécula cuya función es la activación de los osteoclastos-).
- Riñón: incrementa la eficiencia en la reabsorción tubular de calcio y concentraciones bajas de fósforo activan la 1-alfa-hidroxilasa, disminuyendo así su excreción renal.
- Glándulas paratiroides: inhibe la transcripción del gen de la PTH.

El hallazgo de su receptor nuclear en células y tejidos esenciales del organismo sin vinculación con el metabolismo del calcio ha generado hipótesis sobre otras funciones denominadas “extraesqueléticas” o no clásicas.^{38,40}

3. ANÁLISIS DEL METABOLISMO ÓSEO

Además de por la valoración del metabolismo fosfocálcico, el remodelado óseo puede valorarse de forma directa mediante histomorfometría a partir de la biopsia ósea, o bien, de forma indirecta, mediante la determinación de una serie de constituyentes de la sangre y la orina, denominados marcadores bioquímicos del remodelado óseo, que son enzimas u otras proteínas secretadas por las células óseas (OB/OC – osteoblastos/Osteoclastos) o bien productos que se originan durante la formación o degradación del colágeno tipo 1, principal proteína que forma la matriz orgánica del hueso.

En la práctica asistencial diaria, la valoración del metabolismo óseo se realiza desde el punto de vista bioquímico, con la determinación de calcio, excreción de calcio en orina de 24 horas, fósforo, PTH, 25-OH-vitamina D y marcadores de remodelado óseo (actualmente de valoración para control terapéutico del paciente) como Telopéptido del Colágeno tipo 1 (CTX), Propéptido Aminoterminal del Procolágeno tipo 1 (PINP) o Fosfatasa Alcalina Ósea (FAO). En los estudios de investigación de manera específica pueden analizarse otros parámetros específicos de regulación del remodelado óseo como esclerostina, osteoprotegerina (OPG) y RANKL, entre otros.

Los marcadores de remodelado óseo se pueden clasificar de muchas maneras (célula de origen de los enzimas, derivados del colágeno, según si evalúan formación o resorción ósea, muestra de determinación...). Los marcadores de remodelado óseo más utilizados en la actualidad son los derivados del metabolismo del colágeno (PINP, CTX) y la FAO.

3.1 FOSFATASA ALCALINA ÓSEA

La FAO es una enzima y proteína sintetizada por los osteoblastos que es ampliamente utilizada como marcador de formación ósea. La FA puede utilizarse en caso de que no se pueda cuantificar la FAO, pero tiene falta de especificidad (isoenzimas hepáticas, renales, intestinal, placentaria). Bien es cierto que en condiciones normales, las 2 isoenzimas fundamentales son la hepática y la ósea por lo que a pesar de ello y en ausencia de desórdenes hepáticos ha sido muy utilizada por bajo coste y sencillez en la determinación.⁴¹

Actualmente existen métodos inmunológicos para cuantificar la isoenzima ósea con pequeña reactividad cruzada (8%) con el isoenzima hepático.

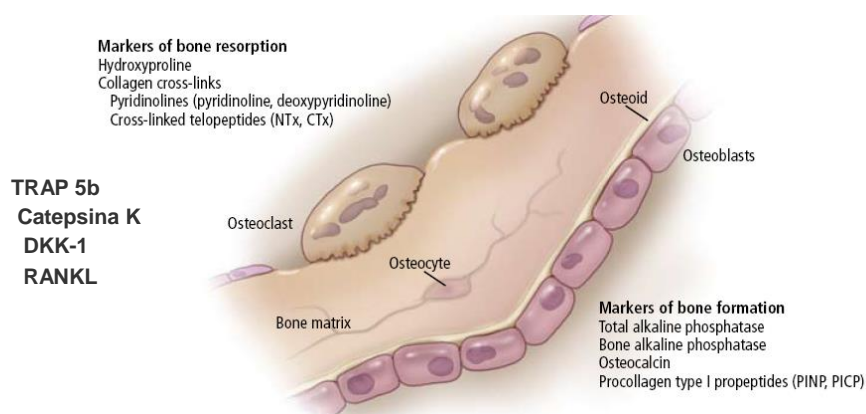


Figura 3. Marcadores de formación y resorción ósea.⁴²

3.2 MARCADORES DERIVADOS DEL COLÁGENO TIPO 1

El colágeno tipo 1 es el tipo más abundante (>50%) del cual el 50-70% se encuentra en el hueso y dentro del mismo constituye el 90% de la matriz orgánica. También se encuentra en la piel, dentina, tendones y ligamentos. Es importante destacar que la actividad metabólica del colágeno tipo I del tejido óseo es superior a la de los tejidos blandos, por lo que las concentraciones circulantes de sus metabolitos reflejan con mayor probabilidad el metabolismo del colágeno óseo (pero no completamente específico debido a su amplia presencia en otros tejidos).⁴¹

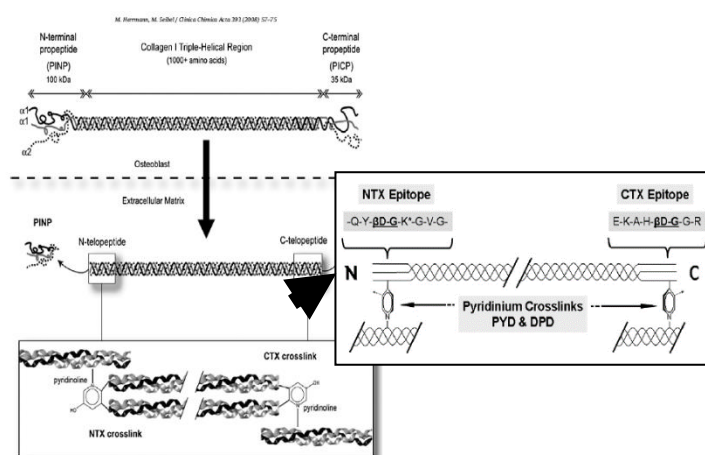


Figura 4. Base molecular de los marcadores utilizados actualmente de la degradación relacionada con el colágeno de tipo I y representación esquemática de los marcadores de reabsorción ósea de colágeno.^{43,44}

La triple hélice de colágeno está formada por 2 cadenas 1 y una molécula 2. Una vez se ha formado la triple hélice del procolágeno es transportada a la superficie celular y excretada. Una vez fuera de la célula los propéptidos C y N-terminal (PICP y PINP) son liberados por acción de la procolágeno-peptidasa. Debido a su tamaño, forma y carga eléctrica, estos propéptidos no se eliminan por orina sino que son eliminados de la sangre a través del hígado (por tanto, no se alteran en la insuficiencia renal). Debido a que estos propéptidos se liberan durante el proceso de formación de las fibras de colágeno, se consideran marcadores de formación. El más sensible y específico es el PINP, correlaciona más con estudios histomorfométricos.⁴¹

Por otra parte, cuando los osteoclastos reabsorben el hueso secretan proteasas que degradan la matriz colágena a fragmentos moleculares. Los fragmentos circulantes contienen piridinolinas, aminoácidos libres (prolinas, lisinas) o segmentos amino o carboxiterminales de las fracciones telopeptídicas del colágeno. El CTX se trata de un péptido de 8 aminoácidos del segmento C-terminal de una cadena -1 del colágeno, participando uno de estos aminoácidos en la formación de un puente piridinólico. Hay una B-isomerización que permite aumentar el valor de estos fragmentos modificados como marcadores más específicos de recambio óseo. Se sabe que la relación CTx/PINP aumenta con la edad y peor calidad del hueso.⁴¹

En 2011 se presentó un consenso por el cual los marcadores de elección a determinar por su mayor sensibilidad y especificidad y capacidad de automatización fueron el PINP y CTX.^{45,46}

4.METABOLISMO FOSFOCÁLCICO EN LA EPOC

Los pacientes con EPOC presentan múltiples comorbilidades, entre ellas problemas en la mineralización ósea como la osteopenia y la osteoporosis que pueden interferir en la calidad de vida, planteamientos terapéuticos y evolución de la enfermedad.⁴⁷

La prevalencia de osteoporosis en los pacientes con EPOC es mayor a la esperada en la población general para una misma edad y la gravedad de la misma está directamente relacionada con el grado de obstrucción de la vía aérea.⁴⁷

La patogénesis de la osteoporosis asociada a la EPOC tiene un origen multifactorial. Unos factores se atribuyen al estilo de vida de los pacientes como el tabaco, otros a la progresión de la enfermedad, como la debilidad muscular e inactividad, otros a los glucocorticoides utilizados en el tratamiento de la EPOC y sumado a ellos está la predisposición genética y la inflamación sistémica.⁴⁸

Tabaquismo: el tabaco se considera un factor de riesgo en la pérdida de masa ósea.⁴⁹⁻⁵¹ Se conoce que el tabaco tiene diversos efectos tóxicos sobre el hueso, como el descenso de la absorción intestinal de calcio y la pérdida de peso. Sin embargo, se desconoce el mecanismo fisiopatológico que explica la disminución de masa ósea en los pacientes fumadores.

Debilidad muscular: en los pacientes con EPOC se ha demostrado que se producen diferentes alteraciones en el tejido muscular -disminución de la actividad aeróbica, pérdida de fibras tipo I, presencia de células inflamatorias e incremento de la apoptosis-responsables de la disfunción musculoesquelética que manifiestan estos pacientes y que conducen a una fatiga muscular que limita la tolerancia al ejercicio.⁵²

El grado de obstrucción aérea está estrechamente relacionado con la pérdida de función muscular, de manera que, con la progresión de la enfermedad, en estos pacientes se acaba produciendo una atrofia muscular que incrementa aún más la disminución de actividad física, y por tanto, también favorece la pérdida de masa ósea.

Índice de masa corporal: la pérdida de peso y de masa corporal son otras de las manifestaciones relacionadas con la EPOC. Se considera que la causa de esta marcada pérdida de peso es consecuencia de la disminución de la ingesta y el incremento del trabajo respiratorio junto con el efecto de la inflamación sistémica crónica.

La caquexia es un síndrome asociado con un elevado gasto de energía basal que conduce al desgaste del tejido adiposo y del músculo esquelético a través de un mayor

catabolismo de grasas y proteínas. Es un factor de riesgo importante para la mortalidad.⁵³

Existen dos tipos de tejido adiposo en el cuerpo. El tejido adiposo blanco almacena reservas de energía como grasa y el tejido adiposo marrón cuya función es la oxidación de los lípidos para producir calor. Ambos tipos de adipocitos juegan un papel importante en la homeostasis energética.⁵⁴

Un estudio reciente realizado en ratones identificó la proteína relacionada con la hormona paratiroidea (PTHrP) como inductor de la expresión termogénica y la pérdida de tejido adiposo.⁵⁵ PTHrP y PTH son similares en cuanto a la homología de secuencia en sus primeros 34 aminoácidos y además comparten el mismo receptor de la superficie celular.

Déficit de vitamina D: como había comentado previamente, la vitamina D participa en la absorción intestinal de calcio y fósforo e interviene en la mineralización de la matriz ósea, de manera que su déficit puede producir una disminución de la mineralización y contribuir a una baja masa ósea.

Estudios recientes en los que se compararon fumadores con y sin EPOC, demostraron que los pacientes con EPOC avanzada presentan con cierta frecuencia déficit de vitamina D.⁵⁶⁻⁵⁸ Otros estudios revelan una disminución del aporte diario dietético de vitamina D en pacientes con EPOC⁵⁹, especialmente en ancianos.

A pesar de que se cree que hay una asociación entre la ingesta de vitamina D y una mejor función respiratoria, un estudio longitudinal en fumadores activos con EPOC leve o moderada y un estudio prospectivo de cohortes no demostraron la existencia de relación entre niveles basales bajos de vitamina D y deterioro de la función respiratoria.⁶⁰ Así mismo, el estudio prospectivo realizado por Skaaby et al. mostró que, aunque niveles bajos de vitamina D correlacionan con una alta prevalencia de EPOC, la deficiencia de vitamina D no tuvo una asociación significativa entre la deficiencia de vitamina D y la exacerbación o mortalidad por EPOC.⁶¹ Por otra parte, Afzal et al. reportaron que los niveles más bajos de vitamina D están asociados con una tasa de disminución del FEV1 más rápida, una mayor prevalencia de EPOC y un mayor riesgo de desarrollo de EPOC.⁶² Desde otro punto de vista, Jackson et al no describen diferencias en los niveles de vitamina D en pacientes con y sin EPOC, pero si observaron una elevación de los niveles de PTH en el grupo de pacientes con EPOC.⁶³ Adicionalmente, Janssens et al. determinaron en su estudio entre fumadores con EPOC y fumadores sanos que los niveles séricos de 25-OH-vitamina D se correlacionan de manera significativa con el FEV₁ en pacientes con EPOC.

Dada la diversidad de resultados observados en los diferentes estudios sobre los niveles de vitamina D y la función respiratoria en pacientes con EPOC, se describió la hipótesis de que existan subgrupos de pacientes con EPOC con distinta predisposición genética para desarrollar déficit de vitamina D.⁶⁴

Otra posible explicación a estas discrepancias sobre el papel de la vitamina D en pacientes con EPOC es la compleja interacción entre la vitamina D y la PTH. Los niveles de vitamina D son controlados, entre otros factores, por la PTH para mantener la

homeostasis del calcio y en sí misma, la PTH es un biomarcador del déficit de vitamina D.⁶⁵

Existe por lo tanto, una serie de factores que intervienen tanto en el metabolismo fosfocálcico como en variables clínicas importantes en la EPOC.

HIPÓTESIS

Los parámetros del metabolismo fosfocálcico están alterados en los pacientes con EPOC, especialmente en los pacientes con características clínicas más graves. Estas variables son distintas entre los pacientes fumadores activos y ex-fumadores.

OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

El objetivo fundamental de este estudio, es cuantificar los principales parámetros bioquímicos relacionados con el metabolismo óseo en pacientes de nuestra comunidad diagnosticados de EPOC (sin diagnóstico previo de patología ósea u otras comorbilidades que pudieran alterarlos), y su relación con el hábito tabáquico y parámetros clínicos.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir los parámetros bioquímicos relacionados con el metabolismo fosfocálcico en una cohorte de pacientes con EPOC (PTH, vitamina D, marcadores de resorción ósea).
- Estudiar las correlaciones de las principales variables del metabolismo fosfocálcico con las variables clínicas de la EPOC.
- Evaluar las diferencias de las distintas variables del metabolismo fosfocálcico en los distintos grupos clínicos de pacientes con EPOC (disneicos, sintomáticos y con alto riesgo de agudización).
- Evaluar las diferencias existentes entre el grupo de fumadores y exfumadores en lo que se refiere al metabolismo óseo, ajustando los grupos por edad, sexo y FEV1.
- Establecer si las correlaciones existentes de las principales variables del metabolismo fosfocálcico con las variables clínicas de la EPOC son iguales en los pacientes fumadores y ex-fumadores.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio prospectivo observacional que se llevó a cabo en un único centro - Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV), Santander - tras haber obtenido la aprobación del Comité Ético de Investigación de Cantabria (CEIC) y el consentimiento informado* y por escrito de los pacientes incluidos en la muestra a estudio para la extracción de la muestra de sangre.

*(Se adjunta consentimiento informado dado a los pacientes y aprobación del CEIC en Anexos).

1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Los objetivos de esta investigación han requerido de un estudio prospectivo en pacientes con diagnóstico de EPOC.

El diseño prospectivo trata de responder los objetivos evaluando datos clínicos y analíticos de los pacientes de la muestra durante el seguimiento de su enfermedad.

2. SELECCIÓN DE PACIENTES

Los participantes son pacientes con EPOC de entre 40 y 85 años – con un tratamiento broncodilatador de base tienen un cociente $FEV_1/FVC < 0,70$ - que fueron reclutados durante su seguimiento regular en consultas externas de Neumología entre Octubre de 2017 y Octubre de 2018. El seguimiento en consulta de estos pacientes y el análisis de las muestras de sangre extraídas fue llevado a cabo durante todo el período de investigación por dos facultativos especialistas del HUMV.

Criterios de inclusión: Pacientes diagnosticados de EPOC mediante espirometría con test broncodilatador realizada siguiendo los criterios SEPAR⁶⁶. Consiste en realizar una espirometría, administrar 400 mcg de salbutamol y repetir la prueba 20 minutos después. Los pacientes con un cociente FEV_1/FVC menor de 0,7 y con una mejoría menor de 200 ml o el 12% del valor de referencia se consideran pacientes con EPOC.

Criterios de exclusión:

- Diagnóstico de osteoporosis previo a la inclusión en el estudio.
- Tratamiento con vitamina D y/o para la osteoporosis.
- Pacientes con diagnóstico previo de insuficiencia renal o valores de creatinina $> 1,20$ mg/dl.
- Valores de ALT > 50 mg/dl, GGT > 130 mg/dl.

Tras la revisión de las historias clínicas se incluyeron en el estudio un total de 131 pacientes.

2.1 GRUPOS CLÍNICOS

Los pacientes incluidos en el estudio fueron divididos en distintos grupos clínicos en función de variables clínicas dicotómicas según los criterios establecidos por las guías GOLD.¹ Los pacientes con un grado de disnea de la mMRC de 2 o más fueron considerados pacientes disneicos, y los pacientes con 1 o menos no disneicos. Los pacientes con valores en el CAT de 10 o más fueron considerados sintomáticos y con 9 o menos no sintomáticos. Los pacientes con 2 o más agudizaciones moderadas o con un ingreso en el año previo fueron considerados pacientes con alto riesgo de agudización, y el resto de pacientes con bajo riesgo de agudización.

3. RECOGIDA DE DATOS

Mediante revisión de historia clínica o entrevista estructurada a efecto de recoger las siguientes variables clínicas:

- Edad, peso, talla e índice de masa corporal (IMC).
- Hábito tabáquico.
- COPD assessment test (CAT) – cuestionario de calidad de vida.
- Saturación de oxígeno.
- FEV₁, FVC y cociente FEV₁/FVC, que se estimó a través de la espirometría realizada a todos los individuos⁶⁶.
- Grado de disnea mMRC. Criterios de bronquitis crónica.
- Número de agudizaciones e ingresos.
- Test de la marcha en 6 minutos: se realizó según el protocolo de la Sociedad Torácica Americana⁶⁷; se les pidió a los pacientes que caminasen, en la medida de lo posible, durante 6 minutos a lo largo de un pasillo recto de 30 metros sin interrupciones. Al final de la prueba se registró tanto la distancia recorrida como el grado de disnea que le supuso al paciente.
- La composición corporal fue estimada mediante un dispositivo de impedancia bioeléctrica (BF511, Omrom, kioto). El índice de masa magra (FFMI): se calculó a partir de la grasa corporal mediante la fórmula $FFMI = (\text{Peso total (kg)} - \text{peso de masa grasa (kg)}) / (\text{Altura (metros)})^2$.

4. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

La toma de sangre se realizó de manera sistemática en todos los pacientes en ayunas entre las 08.00 y 09.00 horas de la mañana. A cada paciente se le extrajeron 10 mL de sangre en tubos de vacío siliconados con filtro de gel de sílice sin anticoagulante para la obtención de suero, así como una muestra de 5 mL en tubo con EDTA (1mg/mL), para la obtención de plasma. La extracción de sangre se hizo sin compresor para la cuantificación adecuada de calcio.

Todas las muestras se procesaron lo antes posible desde la extracción. Los tubos para la obtención de suero se dejaron coagular durante 20-30 minutos y posteriormente se centrifugaron a 2000 g. a temperatura ambiente. Las técnicas básicas se realizaron el mismo día de la extracción mientras que parte del suero y plasma obtenido del tubo EDTA se alicuotó en tubos Eppendorf debidamente identificados y se congeló a -80°C hasta su posterior procesamiento para las determinaciones más específicas.

Las determinaciones de calcio total, fósforo, albúmina, transaminasas y fosfatasa alcalina total se realizaron en suero mediante el análisis automatizado en un Advia 1800 Chemistry (Siemens HealthCare Diagnostics, Mannheim, Germany) usando reactivos suministrados por SIEMENS® y según las reacciones específicas. Los niveles de calcio total fueron corregidos por la albúmina.

- Calcio Total: espectrofotometría automatizada: método del complejo de la q-cresoltaleína.
- Transaminasas: técnica enzimática automatizada.
- Fósforo: espectrofotometría automatizada: método del complejo del molibdato amónico.
- Albúmina: espectrofotometría automatizada: método del verde del Bromocresol.
- Fosfatasa Alcalina Total: espectrofotometría automatizada: de la actividad del enzima sobre el sustrato 4-nitrofenil-fosfato 4NPP.

Las técnicas específicas se analizaron de la siguiente manera:

- PTH: la determinación de los niveles de PTHi se realiza mediante inmunoensayo específico quimioluminiscente automatizado en un iSYS (IDS-iSYS Multi-Discipline Automated Analyser, Pouilly-en Auxois, France). Sensibilidad: 5 pg/mL. Especificidad: el ensayo utiliza 2 anticuerpos monoclonales específicos: uno contra el fragmento 39-84 y otro contra el fragmento aminoterminal 1-34. Este ensayo reconoce la PTH intacta 1-84 (100%), pero tiene reacción cruzada con el fragmento 7-84 de reciente identificación y de significado clínico desconocido. La reproductibilidad intraensayo fue 2,6 y la reproducibilidad interensayo fue 5,8%. Normalidad en suero: <45 pg/mL.
- 25-OH-VITAMINA D: el método empleado es inmunoensayo competitivo directo por quimioluminiscencia para la determinación cuantitativa del total de 25(OH) D en suero (D2+D3). El equipo utilizado es un Liaison® XL Analyzer (DiaSorin, Stillwater, Minnesota, USA). Sensibilidad de 4 ng/mL; Especificidad: 100%

reacción cruzada con 25(OH)D₂ y 100% con D₃. Reproducibilidad intra e interensayo <8 y <12%. Déficit de vitamina D < 20 ng/mL.

- FA ÓSEA: la cuantificación sérica de la FAO se realizó mediante ensayo inmunológico específico determinando la actividad de la FA de origen ósea en un iSYS (IDS-Isys Multi-Discipline Automated Analyser, Pouilly-en Auxois, France). Reactividad cruzada del 100 % con la forma ósea; <10% con la hepática; 0 % con la placentaria; 0 % con la intestinal. La sensibilidad de la técnica es de 1 ng/mL. La reproductibilidad intra e interensayo es de <3 y <10 % respectivamente. Mujeres postmenopáusicas: 5,5 – 27,1 ng/mL; hombres 5,7 – 32,9 ng/mL.
- Los marcadores de remodelado óseo (P1NP y Crosslaps-β) se realizaron mediante inmunoensayo específico quimioluminiscente automatizado en un iSYS (IDS-iSYS Multi-Discipline Automated Analyser, Pouilly-en Auxois, France). Sensibilidad: 0,14 ng/ml para P1NP y 0,030 ng/ml para -Crosslaps. La reproductibilidad intraensayo fue <10 y <15% respectivamente y la reproductibilidad interensayo fue <5% y <8% respectivamente.
- FGF – 23: inmunoensayo específico de doble anticuerpo (ELISA) de Immunotopics International. Sensibilidad 1,5 pg/ml. Reproducibilidad intra e interensayo <10%.

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Los datos son presentados como media ± desviación estándar para variables con distribución paramétrica y mediana (rango intercuartílico) para variables no paramétricas.

Al analizar los datos se hizo en primer lugar un estudio de la distribución normal o no de las variables analizadas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov.

La comparación de variables entre grupos se analizó con el test de la T de Student en las variables paramétricas y el test de la U de Mann-Whitney en las que no seguían una distribución normal. Para el análisis de correlaciones entre 2 variables numéricas se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson (r) para datos paramétricos y el coeficiente de correlación de Spearman (rho) para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativa una $p < 0,05$.

Para el análisis estadístico se utilizó la versión 25.00 del programa estadístico SPSS Software (IBM) para PC.

RESULTADOS

156 pacientes con EPOC fueron seleccionados para el estudio desde las consultas externas de neumología, de ellos, se excluyeron del estudio a 15 pacientes por presentar insuficiencia renal no conocida previamente y 10 pacientes por presentar alteraciones en las pruebas de función hepática. Finalmente se incluyeron en el estudio a 131 pacientes. Las principales características de la muestra se presentan en la tabla 1, y en la tabla 2 se reflejan los datos analíticos obtenidos en el total de pacientes.

Tabla 1. Datos demográficos y clínicos de los pacientes del estudio.

VARIABLE n=131	
Edad (años)	65±8,6
Sexo Varón n (%)	90 (62,2)
FVC (mL)	3045±971
FVC (%)	94±19
FEV ₁ (mL)	1400 (1070-1960)
FEV ₁ (%)	60,4±21
COC	49±12
Agudizaciones previas	0 (0-2)
Ingresos previos	0 (0-0)
CAT	11,6±8,7
Grado de disnea mMRC	1 (1-2)
FFMI (kg/m ²)	18,7±2,7
T6MM (m)	435±97
IMC (Kg/m ²)	27,8±5,7
Fuerza mano derecha (kg)	32±12
Fuerza mano izquierda (kg)	30,9±11,3
Los datos cuantitativos se expresan como media ± desviación estándar o mediana (rango) dependiendo de la distribución de la variable. FVC: capacidad vital forzada; FEV ₁ : volumen espirado máximo en el primer segundo; COC: relación FEV ₁ /FVC; CAT: COPD assessment test; mMRC: Medical Research Council modificada; FFMI: índice masa libre de grasa; T6MM: test de marcha en 6 minutos; IMC: índice de masa corporal.	

Tabla 2. Parámetros analíticos de los pacientes del estudio.

VARIABLE n=131	
PTH (pg/mL)	37,8±17
Vitamina D (ng/mL)	15 (10-24)
Fosfatasa Alcalina (U/L)	73 (64-85)
Fosfatasa Alcalina Ósea (µg/L)	15,2±5,7
Albúmina (g/dL)	4,3 (4,1-4,4)
Calcio (mg/dL)	9,6 (9,3-9,8)
Fósforo (mg/dL)	3,3 (2,8-3,6)
Magnesio (mg/dL)	2 (1,9-2,1)
Creatinina (mg/dL)	0,7±0,18
ALT (U/L)	23,9±7,4
GGT (U/L)	35 (25-47)
PINP (ng/mL)	38,6 (27-52)
CTX (ng/mL)	0,14 (0,08-0,22)
FGF-23 (pg/mL)	45,1 (35,7 – 58,85)
PCR (mg/dL)	0,4 (0,1-0,8)

PTH: hormona paratiroidea; ALT: alanina aminotransferasa; GGT: gamma glutamiltrasferasa; PINP: propéptido aminoterminal del procolágeno tipo 1; CTX: telopéptido del colágeno tipo 1; FGF-23: factor 23 de crecimiento fibroblástico; PCR: proteína C reactiva.

1. CORRELACIONES TOTALES CON VARIABLES DE LA EPOC

La tabla 3 muestra las correlaciones estadísticamente significativas entre las distintas variables del metabolismo fosfocálcico y variables clínicas de los pacientes con EPOC. Las figuras 5-8 muestran los diagramas de dispersión de las correlaciones más fuertes.

Tabla 3. Correlaciones de variables del metabolismo fosfocálcico y variables clínicas de la EPOC.

CORRELACIONES GRUPO TOTAL	r	p
PTH – Edad	0,298	<0,001
PTH – FEV ₁ (%)	- 0,224	0,013
PTH – FEV ₁ (mL)	- 0, 263	0,003
PTH – FVC (mL)	- 0,181	0,45
Alcalina – FFMI	- 0,222	0,044
Alcalina – T6MM	- 0,327	0,006
Alcalina – FEV ₁ (mL)	- 0,219	0,015
Alcalina – FVC (mL)	- 0,196	0,031
Alcalina FEV ₁ (%)	- 0,228	0,012
Alcalina – Agudizaciones	- 0,203	0,04
Alcalina ósea – T6MM	- 0,377	<0,001
Vitamina D – T6MM	0,242	0,042
Vitamina D – Agudizaciones	- 0,212	0,031
Creatinina – FGF23	0,237	0,011
Creatinina – Agudizaciones	- 0,251	0,019
PINP – T6MM	- 0,443	0,000
PINP – CAT	0,207	0,049
CTX – IMC	0,253	0,007
CTX – T6MM	- 0,289	0,014
FGF23 – Edad	0,214	0,015
FGF23 – FVC (%)	0,273	0,003

PTH: hormona paratiroidea; FEV₁: volumen espirado máximo en el primer segundo; FVC: capacidad vital forzada; FFMI: índice de masa magra; T6MM: test de marcha en 6 minutos; FGF23: factor 23 de crecimiento fibroblástico; PINP: propéptido aminoterminal del procolágeno tipo 1; CAT: COPD assessment test; CTX: telopéptido del colágeno tipo 1; IMC: índice de masa corporal;

Figura 5. Diagrama de dispersión de la correlación entre edad y PTH.

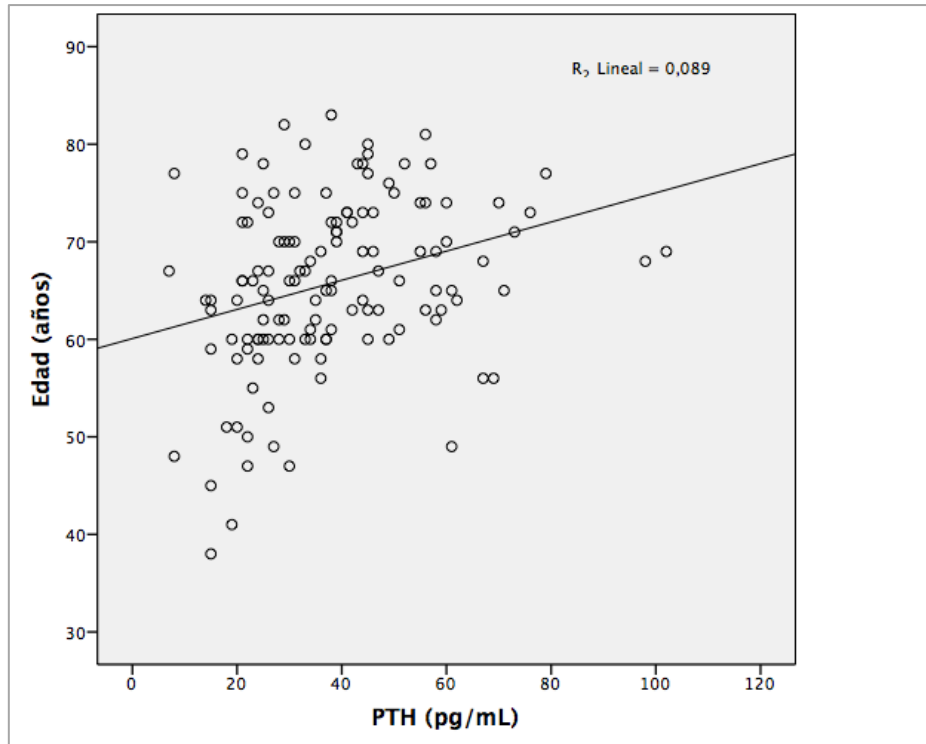


Figura 6. Diagrama de dispersión de la correlación entre fosfatasa alcalina el test de marcha en 6 minutos.

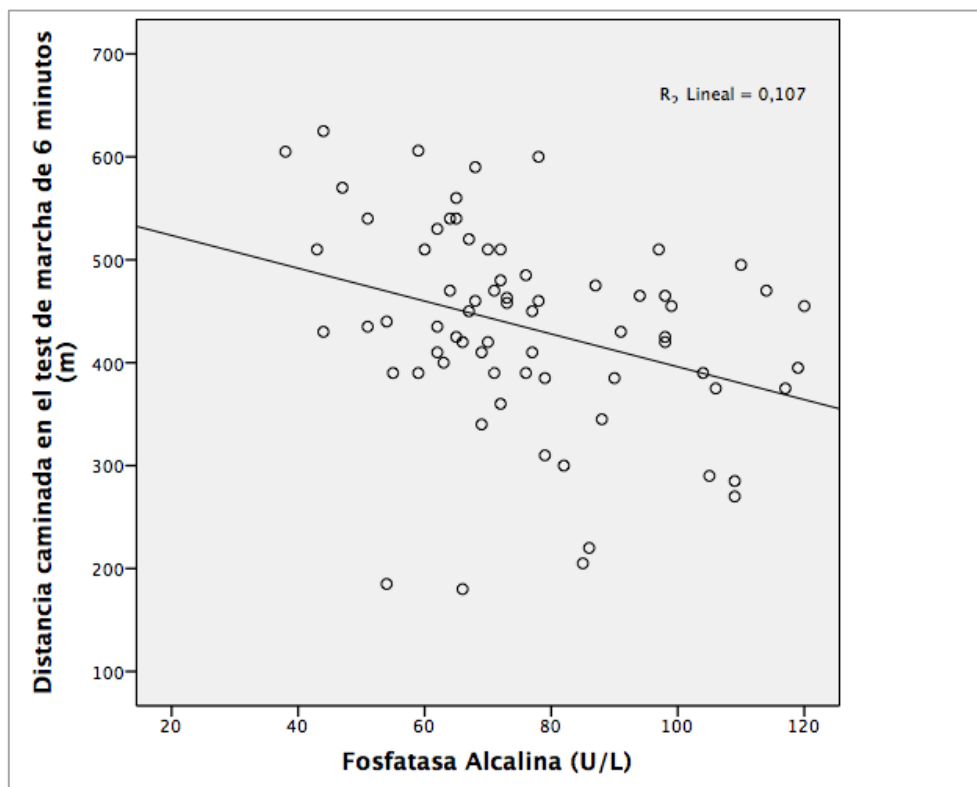


Figura 7. Diagrama de dispersión de la correlación entre fosfatasa alcalina ósea y el test de marcha de 6 minutos.

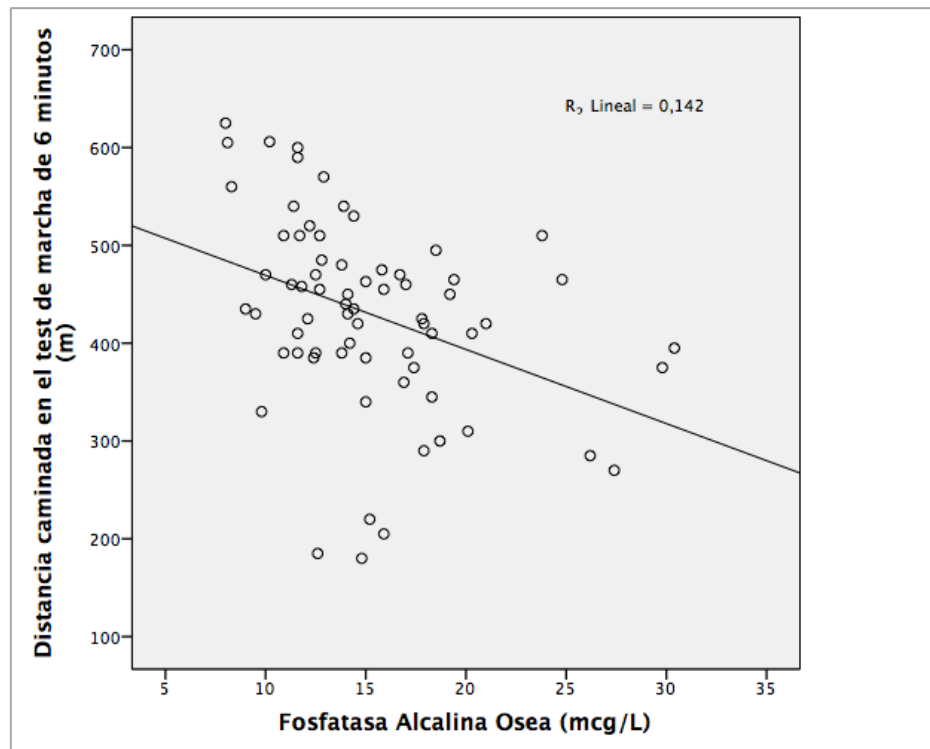
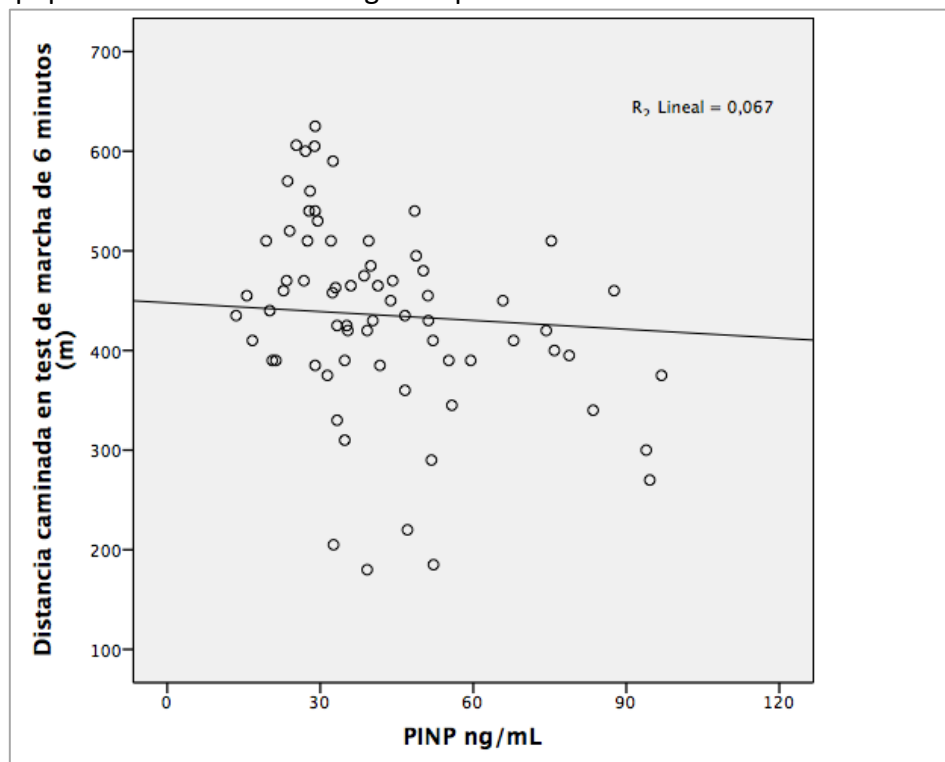


Figura 8. Diagrama de dispersión de la correlación entre el test de marcha en 6 minutos y el propéptido N-terminal de colágeno tipo I.



2. DIFERENCIAS EN LOS NIVELES DE LAS DISTINTAS VARIABLES DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCICO EN LOS DISTINTOS GRUPOS CLÍNICOS DE LA EPOC

Las tablas 4-7 expresan las diferencias en los niveles de los parámetros fundamentales del metabolismo óseo en los grupos clínicos de la EPOC.

Tabla 4. PTH en los diferentes grupos clínicos.

Característica clínicas	Pacientes con característica (n)	PTH en pacientes con característica	PTH en pacientes sin característica	p
Disneicos	43	37,95±14	38,98±18,9	0.969
Sintomáticos	47	40,2±17,9	38,1±17,9	0.903
Alto riesgo de agudización	30	38,29±16,5	38,2±18,79	0.991

Tabla 5. Vitamina D en los diferentes grupos clínicos.

Característica clínica	Pacientes con característica (n)	Vitamina D en paciente con característica	Vitamina D en pacientes sin característica	P
Disneicos	43	8 (10-24)	15 (11-25)	0.268
Sintomáticos	47	14 (10-25)	19 (11-26)	0.215
Alto riesgo de agudización	30	15 (10-22)	18 (12-26)	0.070

Tabla 6. Fosfatasa alcalina en los diferentes grupos clínicos.

Característica clínica	Pacientes con característica (n)	F. Alcalina en pacientes con característica	F. Alcalina en pacientes sin característica	P
Disneicos	43	76,7±20,6	74,2±18,3	0.487
Sintomáticos	47	75,8±19,5	73,2±18,9	0.523
Alto riesgo de agudización	30	66,6±17,6	77,16±18	0.009

Tabla 7. Fosfatasa alcalina ósea en los diferentes grupos clínicos.

Característica clínica	Pacientes con característica (n)	FA ósea en pacientes con característica	FA ósea en pacientes sin característica	P
Disneicos	43	15,7±5,5	14,9±5,88	0.479
Sintomáticos	47	15,4±5,4	15,5±5,7	0.914
Alto riesgo de agudización	30	13,73±4,9	15,6±5,7	0.088

Como puede observarse en las tablas 6 y 7, la FA total y la FAO presentan diferencias estadísticamente significativas siendo mayor en los pacientes con alto riesgo de agudización.

3. DIFERENCIAS ENTRE FUMADORES Y NO FUMADORES

De la muestra inicial se realizó un ajuste por edad, sexo y FEV₁ entre los pacientes fumadores y no fumadores, viéndose reducida la muestra final del estudio a 120 pacientes con EPOC, 60 pacientes en cada grupo.

Las características demográficas, clínicas y analíticas de ambos grupos están representados en la tabla 8.

Tabla 8. Características clínicas y parámetros analíticos de los pacientes fumadores y exfumadores del estudio.

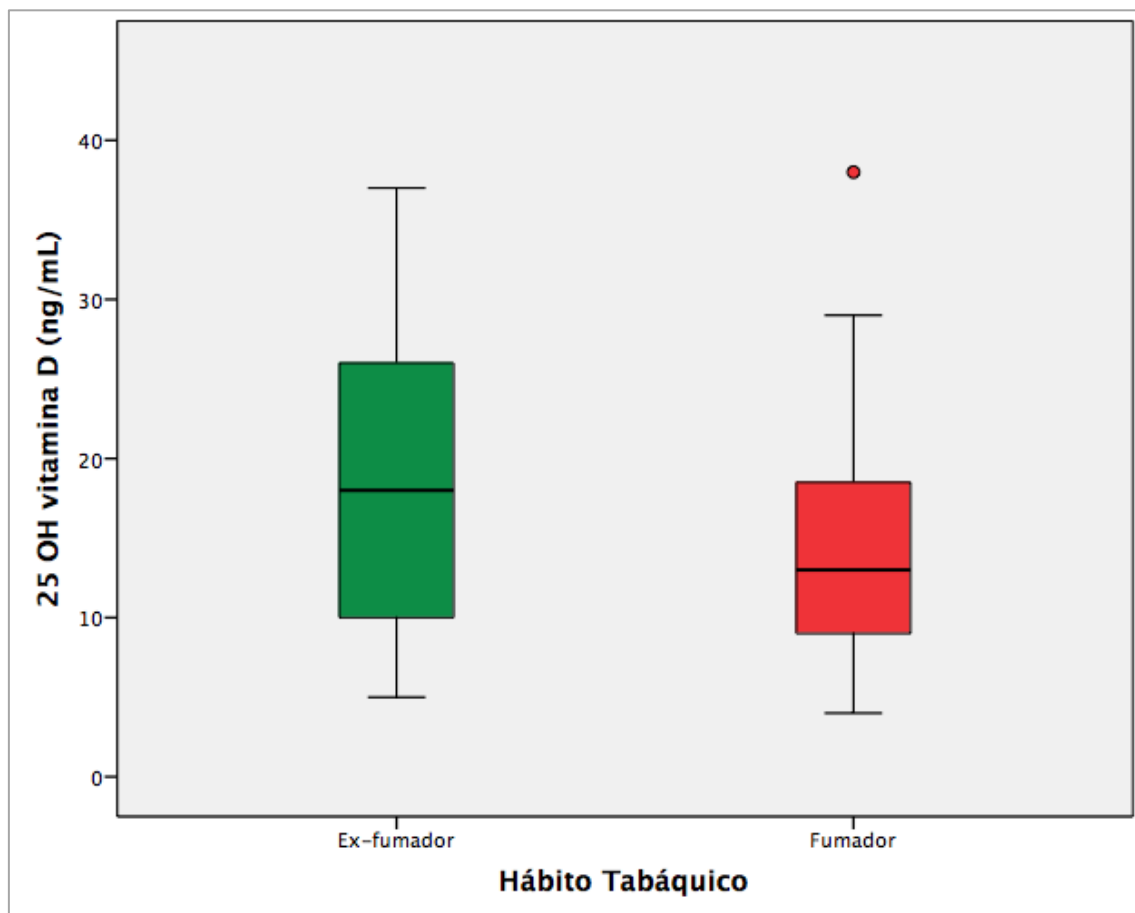
	Ex fumadores	Fumadores	P
Edad (Años)	66,2±7	65,2±6,6	0,68
Sexo (% hombres)	41 (68%)	38 (63%)	0,29
FEV ₁ (%)	64,8±21	65±21	0,56
Exacerbaciones	1 (0-2)	0 (0-1)	0,41
CAT	12±8,9	14±12	0,43
Grados de disnea mMRC	1 (1-2)	1 (1-2)	0,27
Corticoides inhalados	14 (23,3%)	9 (15%)	0,354
IPA	37±24,37	42,94±28	0,375
FA (U/L)	74,8±19	81,2±24	0,129
FAO (µg/L)	15,43±5,7	15,6±5,9	0,227
25-OH-vitamina D (ng/mL)	18 (10-26)	13 (9-18)	0,015
PTH (pg/mL)	37 (27-48)	30 (22-50)	0,171
CTX (ng/mL)	0,16 (0,9-0,21)	0,17 (0,1-0,27)	0,093
PINP (ng/mL)	39,9 (28-52)	38 (28-59)	0,29
Calcio (mg/dL)	9,6 (9,2-9,8)	9,6 (9,4-9,9)	0,85
Albúmina (g/dL)	4,3 (4,1-4,45)	4,2 (4-4,4)	0,11

FEV₁: volumen espirado máximo en el primer segundo; CAT: COPD assessment test; mMRC: Medical Research Council modificada; IPA: índice paquetes-año; FA: fosfatasa alcalina; FAO: fosfatasa alcalina

ósea; PTH: hormona paratiroidea; CTX: telopéptido del colágeno tipo 1; PINP: propéptido N-terminal de colágeno tipo I.

Se observa un nivel significativamente mayor de 25-OH-vitamina D en exfumadores ($p=0,015$). (Figura 9).

Figura 9. Comparación de los niveles de 25-OH-Vitamina D en pacientes fumadores y exfumadores.



4. CORRELACIONES TOTALES CON LAS VARIABLES CLÍNICAS

Tabla 9. Diferencias en las correlaciones dependiendo si el paciente es fumador o exfumador.

VARIABLES	FUMADORES		EXFUMADORES	
	r	p	r	p
PTH – FA	- 0,049	0,712	0,282	0,034
PTH – FAO	0,172	0,288	0,430	0,004
PTH – Vit.D	- 0,429	0,001	- 0,158	0,232
FA – PINP	0,262	0,043	0,416	0,001
FA – CTX	0,096	0,466	0,415	0,001
FA – PCR	0,279	0,034	0,123	0,365
FAO – PINP	0,440	0,005	0,702	0,000
FAO – CTX	0,546	0,000	0,525	0,000
PINP – CTX	0,587	0,000	0,549	0,000
Vit. D – PINP	- 0,077	0,559	- 0,297	0,022

PTH: hormona paratiroidea; FA: fosfatasa alcalina; FAO: fosfatasa alcalina ósea; Vit.D: vitamina D; PINP: propéptido N-terminal de colágeno tipo I; CTX: telopéptido del colágeno tipo 1; PCR: proteína C reactiva;

DISCUSIÓN

Los pacientes con EPOC presentan una importante limitación para realizar actividad física debido a diferentes factores como la obstrucción al flujo aéreo, la pérdida de masa muscular o la exposición al tabaco.⁶⁸ La actividad física de manera específica se caracteriza por ser un factor pronóstico independiente de la enfermedad. Se han propuesto distintas formas de estudiar la actividad física de los pacientes con EPOC, por ejemplo mediante el uso de distintos tipos de podómetros,⁶⁹ sin embargo su uso no se ha estandarizado. Las distintas variables del metabolismo mineral óseo dependen de manera directa de la actividad física de nuestros pacientes, y son influidas por una serie de factores que indican mal pronóstico de la enfermedad (por ejemplo las agudizaciones, los ingresos, el uso de corticoides sistémicos para el tratamiento de las agudizaciones, la baja actividad física, el sobrepeso, la inflamación crónica sistémica).⁷⁰ Nuestro estudio se caracteriza por ser el primero en estudiar la asociación de las distintas variables bioquímicas relacionadas con el metabolismo fosfocálcico con variables clínicas de la EPOC en pacientes sin osteoporosis y por evaluar la influencia del tabaquismo sobre estas variables en pacientes con EPOC.

Características de la muestra

Se trata de un grupo de pacientes con EPOC en su mayor parte moderada, con predominio de varones, con una mayor parte de pacientes con criterios de buen pronóstico de la enfermedad tanto por no presentar muchas agudizaciones, ni una disminución marcada en la distancia caminada en el test de marcha de 6 minutos. Las características de esta muestra son similares a las que presentan otras cohortes de pacientes como la cohorte CHAIN⁷¹, por lo que creemos que los resultados del estudio pueden ser extrapolables a otros estudios.

En cuanto a los parámetros bioquímicos relacionados con el metabolismo fosfocálcico, todos se encuentran en rango adecuado salvo los niveles de vitamina D, que presentan una mediana de 15 ng/mL, presentando por lo tanto una insuficiencia de vitamina D nuestra muestra, esto es concordante con otros estudios sobre la prevalencia de déficit de vitamina D entre los pacientes con EPOC.⁵⁶⁻⁵⁸ Este tipo de alteraciones se suele atribuir a la baja exposición a luz solar que presentan estos pacientes debido a la limitación que presentan en cuanto a actividad física y a la inflamación crónica producida por la propia enfermedad.

Correlaciones con variables de la EPOC

Dentro de las correlaciones encontradas, destaca la correlación de la fosfatasa alcalina total, la isoenzima ósea, y los parámetros de resorción ósea con la distancia caminada en el test de marcha de 6 minutos, un indicador de la capacidad de ejercicio que tienen nuestros pacientes con EPOC que se utiliza habitualmente para estimar la supervivencia de nuestros pacientes, formando parte del índice BODE (Body Mass index, Obstrucction,

Dispnoea, Exercise). Este resultado resulta interesante ya que no se ha descrito previamente en la literatura, e induce a plantearse que se podrían utilizar estas variables como estimadores de la actividad física sin la necesidad de realizar pruebas complejas como T6MM que requieren esfuerzo y tiempo y que incluso no pueden ser realizadas en determinados pacientes.

Además de la correlación con el test de marcha de 6 minutos, todas las variables analizadas se correlacionan de forma lógica con los distintos factores clínicos de la EPOC, Así valores altos de PTH, fosfatasa alcalina, PINP, bajos de vitamina D y crosslaps se correlacionan con peores variables clínicas. Estos resultados son atribuibles a la baja actividad física de los pacientes con EPOC y a que la inflamación crónica puede afectar a la resorción ósea.^{61,62}

Diferencias en los distintos grupos clínicos.

- PTH en diferentes grupos clínicos

La PTH en los diferentes grupos clínicos de la EPOC, ya sean disneicos, sintomáticos o con un riesgo alto de agudización o que no presenten ninguna característica de las mencionadas, no muestra diferencias con un nivel de significación estadístico ($p < 0,05$).

- Vitamina D en diferentes grupos clínicos

Aunque no se encuentran diferencias estadísticamente significativas en cuando a los niveles de Vitamina D entre los diferentes grupos clínicos, los pacientes con alto riesgo de agudización, presentan una tendencia a niveles inferiores con respecto al grupo sin alto riesgo de agudización ($p = 0,07$) siendo ambos grupos insuficientes. Hay que tener en cuenta que los niveles de Vitamina D dependen de diferentes factores (dieta, exposición solar,...) siendo el fundamental la exposición solar.

- FA y FAO en diferentes grupos clínicos

En este caso, los pacientes agudizadores presentan niveles más bajos de FA de manera significativa, probablemente a expensas de la fracción ósea, ya que los pacientes con alto riesgo de agudización, también presentan niveles más bajos de FAO (13,7 vs 15,6) aunque no alcance significación estadística ($p = 0,88$), es decir, la resorción ósea es menor en los pacientes agudizadores.

En el estudio se han excluido los pacientes que presentasen cualquier tipo de patología hepática o renal, ya que pueden influir de manera negativa sobre el metabolismo fosfocálcico. Nos parece reseñable el resultado a nivel de la fosfatasa alcalina ya que presenta un mayor número de correlaciones con variables clínicas de la EPOC la fosfatasa alcalina total que la isoenzima ósea, sin embargo no creemos que estos resultados sean atribuibles a producción hepática ya que los pacientes con alteración a nivel de GGT (la otra enzima de colestasis) o pacientes con alteraciones en enzimas de citolisis (ALT) fueron excluidos del Estudio. Se ha descrito previamente la presencia de

niveles alterados de FA en la EPOC⁷², estableciéndose la hipótesis de la existencia de un aumento de actividad catalítica entre los pacientes con EPOC.

Diferencias entre fumadores y no fumadores

En este estudio hemos analizado las diferencias entre los pacientes con EPOC fumadores y los que tienen EPOC pero son exfumadores.

En cuanto a los que se refiere a las variables clínicas se ha observado que no existe ninguna diferencia entre el grupo de fumadores y el de exfumadores. Sin embargo, nos encontramos una diferencia con un nivel significativo ($p=0,015$) en los valores de vitamina D estudiado en ambos grupos. Se observan niveles de vitamina D más bajos en los pacientes fumadores que en los exfumadores. Estudios sobre la vitamina D y pacientes con EPOC^{64,73} exponen que existen diversos factores que podrían explicar este hecho; la disminución de la producción de vitamina D por parte de la piel como consecuencia de los efectos tóxicos producidos por el humo del tabaco, la escasa actividad física al aire libre que conlleva una disminución de la exposición a la luz solar, el incremento del catabolismo de la vitamina D producido por la acción de la inflamación sistémica producida por el humo del tabaco. Nuestra muestra ha sido ajustada por la edad, el sexo y el FEV1 para evitar la influencia de factores externos al propio tabaquismo. Las 2 muestras son prácticamente equivalentes entre si en cuanto a variables clínicas de la EPOC, incluyendo consumo de corticoides inhalados y el número de agudizaciones, donde se produce el uso de corticoides sistémicos de forma habitual.

Diferencias en cuanto a correlaciones en fumadores y ex-fumadores

Por último, en el estudio hemos analizado si las correlaciones entre distintos marcadores del metabolismo fosfocálcico se correlacionan de la misma manera en pacientes fumadores activos y exfumadores. La correlación existente entre la PTH y FAO, y PTH y FA dejan de aparecer en el grupo de pacientes fumadores, de la misma manera que desaparece la correlación Vit. D – PINP, esto sugiere un papel distinto de estos reguladores del metabolismo fosfocálcico entre los pacientes fumadores activos. Por otra parte, los pacientes fumadores presentan una correlación negativa entre los niveles de vitamina D y PTH que los pacientes exfumadores no presentan. Al presentar niveles menores de vitamina D, los pacientes fumadores producen mayor PTH para aumentar la destrucción ósea, aumentando así los niveles de calcio sérico, este fenómeno no ocurrirá en exfumadores por presentar niveles más elevados de vitamina D.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

- Se trata de un estudio realizado exclusivamente en un único centro donde la prevalencia de déficit de vitamina D es elevada en general en toda la población por la escasa exposición a luz solar, sería interesante realizar un estudio multicéntrico contando con localizaciones geográficas que presenten mayor exposición a la luz solar.
- A pesar de que el consumo de bebidas alcohólicas puede influir en los niveles de fosfatasa alcalina y de manera negativa en la progresión de la EPOC (específicamente se considera que puede ser un factor a tener en cuenta en el deterioro de la progresión de la enfermedad en términos de disminución del FEV1) no hemos tenido en cuenta el consumo de alcohol como factor para excluir a pacientes de nuestro estudio.
- Por último, el número de casos al obtener los diferentes subgrupos es pequeño probablemente para obtener conclusiones.

FORTALEZAS DEL ESTUDIO

- Se ha realizado en un grupo de pacientes muy heterogéneo que corresponde a un área metropolitana extensa (hospital de referencia de más de 300000).
- Se trata de un estudio que aporta datos nunca analizados previamente en ningún contexto.

CONCLUSIONES

- Variables del metabolismo fosfocálcico, específicamente, valores altos de PTH, fosfatasa alcalina, PINP, bajos de vitamina D y CTX se correlacionan con peores variables clínicas en la EPOC.
- El nivel de Vitamina D correlaciona de manera positiva con el test de la marcha T6MM.
- El grupo de pacientes con alto riesgo de agudización presenta valores más bajos de vitamina D y menores de fosfatasa alcalina.
- Los pacientes fumadores activos con EPOC presentan niveles más bajos de vitamina D.
- Las variables del metabolismo fosfocálcico no se correlacionan de la misma manera entre fumadores y exfumadores.
- Este estudio plantea la idea de que las variables del metabolismo fosfocálcico se podrían utilizar como predictores de riesgo (agudizaciones, ingresos, mortalidad) en la EPOC.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar a mis tutores, Carlos Amado y María Teresa García Unzueta por acompañarme durante estos meses, por saber llevarme y dirigirme, por las consultas y horas de laboratorio compartidas y, sin duda, por su amabilidad y profesionalidad. Gracias.

También aprovecho para dar las gracias a mis amigos y a mi familia, en especial a mis padres, por el ánimo y apoyo incondicional que siempre me han dado.

ANEXOS

ANEXO 1

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE:

Protocolo de estudio sobre **Papel del tabaquismo sobre los niveles de hormonas relacionadas con el osteocito.**

Versión 1.0

Investigador Principal: Carlos Amado

Estudio Realizado en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla

Nombre del Paciente:

INTRODUCCIÓN

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica correspondiente y respeta la normativa vigente.

Nuestra intención es proporcionarle información adecuada y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en el estudio. Para ello lea con atención esta hoja informativa y luego podrá preguntar cualquier duda que le surja relativa al estudio. Además puede consultar con cualquier persona que considere oportuno.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y puede decidir no participar. En caso de que decida participar en el estudio puede cambiar su decisión y retirar su consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico y sin que se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO:

- Se trata de un estudio que pretende valorar la alteración que se produce en la producción de hueso en los pacientes que fuman. Para ello sacaremos dos muestra de Sangre para analizar distintas hormonas secretadas por el hueso.

- En este estudio participará exclusivamente el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla Concretamente los miembros de la unidad de tratamiento integral de la EPOC: Carlos Amado Diago, Juan Agüero Calvo, y Mercedes Hernando Hernando Las muestras serán analizadas en el laboratorio de análisis clínicos del HUMV por la Dra. Maria Teresa García Unzueta.
- La Población Diana de pacientes consistirá en 40 pacientes fumadores sin EPOC, 40 pacientes fumadores con EPOC 40 controles sanos y 40 EPOC no fumadores.
- Se valorará la alteración de estas hormonas al dejar de fumar.
- La principal variable de respuesta serán las modificaciones en las moléculas citadas tras 6 meses de abstención del hábito tabáquico.
- El estudio no requiere de pruebas complementarias excepcionales salvo la obtención de una muestra de sangre por venopunción inicial y 6 meses después de haber dejado de fumar además de la realización de una Densitometría en el caso de que estuviese indicado por alto riesgo de fractura. La radiación obtenida por este procedimiento es menor que el que se recibe por una radiografía de tórax.

Para el paciente la participación en este estudio únicamente supone la obtención de dos muestras de sangre mediante venopunción. Y la realización de densitometría en los casos en que esté indicado por riesgo de fractura osteoporótica.

1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Se trata del primer estudio que analiza los efectos del tabaco en la vía del osteocito.

Este estudio ayuda a valorar la forma en la que el tabaco ayuda a que aparezca osteoporosis

2. OBJETIVO DEL ESTUDIO

Estudiar cómo se afecta la vía de las moléculas derivadas del osteocito con el tabaco

3. BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE LA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

Beneficios:

Se espera mejorar el conocimiento científico relativo a la formación ósea en pacientes fumadores. De este estudio pueden derivar el uso de nuevos tratamientos como los derivados de la esclerostina en algún subgrupo de pacientes.

Riesgos:

La muestra de *Sangre* se obtendrá mediante el siguiente procedimiento *venopunción* lo que puede suponerle al paciente el riesgo de *pequeño sangrado en el lugar de la punción*.

Únicamente requerimos dos visitas para la toma de muestra sin precisar el estudio de otras visitas (estas visitas se ajustarán a las programadas para seguimiento de una consulta normal).

4. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO, CIRCUITO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

Este estudio cumple la normativa vigente de la Ley 14/2007 de investigación biomédica en cuanto a la protección de los derechos de los pacientes que quieran libremente participar y el manejo de muestras biológicas.

Requeriremos una muestra de sangre además de información sobre su enfermedad pulmonar por la que se le está valorando en esta consulta. Esta muestra será derivada y analizada en el laboratorio de análisis clínicos del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, donde serán conservadas en congeladores a -20°C hasta la finalización del procesamiento de la muestra. Tras su procesamiento, para el análisis de VEGF, FGF 23, Dkk1 y esclerostina, las muestras serán destruidas.

Las muestras no se utilizarán en ningún caso para la realización de estudios genéticos

5. RIESGOS ASOCIADOS AL ESTUDIO

No se contemplan riesgos por participar en el presente estudio.

6. CONFIDENCIALIDAD

Todos los datos de carácter personal se tratarán de acuerdo a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento que la desarrolla.

Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código de forma que no sea posible la identificación del paciente. Sólo el investigador y personas autorizadas relacionadas con el estudio tendrán acceso a dicho código y se comprometen a usar esta información exclusivamente para los fines planteados en el estudio. Los miembros del Comité Ético de Investigación Clínica o Autoridades Sanitarias pueden tener acceso a esta información en cumplimiento de requisitos legales. Se preservará la confidencialidad de estos datos y no podrán ser relacionados con usted, incluso aunque los resultados del estudio sean publicados.

DATOS DE CONTACTO

Si tiene dudas en cualquier momento puede contactar con el médico del estudio
(también se puede especificar un horario):

Dr. _Carlos Amado_____

Tfno._____

E-mail_____

Contacto: Dr. Carlos Amado Diago Teléfono 942202520 extensión de Neumología
Lienres de 8:00-15:00.

ANEXO 2

CONSENTIMIENTO INFORMADO

TÍTULO DEL ESTUDIO: Papel del tabaco en las hormonas dependientes del osteocito.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Carlos Antonio Amado Diago

CENTRO: Hospital Universitario Marqués de Valdecilla

D./Dña. _____

(Nombre y apellidos del paciente en MAYÚSCULAS)

He leído y comprendido la hoja de información que se me ha entregado sobre el estudio arriba indicado.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He realizado todas las preguntas que he precisado sobre el estudio.

He hablado con el Dr/Dra. con
quién he clarificado las posibles dudas.

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- Cuando quiera
- Sin dar explicaciones
- Sin que repercuta en mis cuidados médicos

Comprendo que la información personal que aporte será confidencial y no se mostrará a nadie sin mi consentimiento.

Comprendo que mi participación en el estudio implica autorizar muestra de Sangre y Orina.

Y presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Firma del investigador

Firma del paciente

Fecha _____
(la fecha debe estar cumplimentada de puño y letra por el paciente)

REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO:

Yo, D./Dña. _____
retiro el consentimiento otorgado para mi participación en el estudio arriba citado.

Fecha y firma:



COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN
CLÍNICA DE CANTABRIA
IDIVAL



T. CONCEPCION SOLANAS GUERRERO, Secretario/a del **COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE CANTABRIA**

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta del Investigador Principal del estudio:

TÍTULO: Estudio Para Valorar Los Cambios Que Produce La Abstinencia Tabáquica En Distintas Moléculas Dependientes Del Osteocito.

TIPO DE ESTUDIO: Proyecto de Investigación (Código interno: 2017.035)

y considera que:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto, teniendo en cuenta los beneficios esperados.
- Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.
- La capacidad del investigador y sus colaboradores, y las instalaciones y medios disponibles, tal y como ha sido informado, son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Este CEIC, emite un informe **FAVORABLE** para que dicho Estudio sea realizado en el **HOSPITAL UNIVERSITARIO MARQUÉS DE VALDECILLA**, actuando como investigador principal el Dr. **CARLOS ANTONIO AMADO DIAGO**.

Como queda reflejado en el Acta: **4/2017**.

Lo que firmo en Santander, a **17 de marzo de 2017**

T. CONCEPCION SOLANAS GUERRERO
Secretario/a del CEIC



BIBLIOGRAFÍA

1. Mannino DM, Buist AS. Global burden of COPD: risk factors, prevalence, and future trends. *Lancet*. 2007;370(9589):765-73.
2. Soriano JB, Zielinski J, Price D. Screening for and early detection of chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet*. 2009;374(9691):721–32
3. Vogelmeier CF, Criner GJ, Martínez FJ, Anzueto A, Barnes PJ, Bourbeau J, et al. Informe 2017 de la Iniciativa Global para el Diagnóstico, Tratamiento y Prevención de la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica: Resumen Ejecutivo de GOLD. *Arch Bronconeumol*. 2017;53(3):128–49.
4. Dornhorst AC. Respiratory insufficiency. *Lancet Lond Engl*. 1955;268(6876):1185–7.
5. Montserrat-Capdevila J, Godoy P, Marsal JR, et al. Prevalencia y características de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica en no fumadores. *Aten Primaria* 2018;S0212-6567(17)30439-40.
6. Raad D, Gaddam S, Schunemann HJ, et al. Effects of water-pipe smoking on lung function: a systematic review and meta-analysis. *Chest* 2011;139(4):764-74.
7. She J, Yang P, Wang Y, et al. Chinese water-pipe smoking and the risk of COPD. *Chest* 2014;146(4):924-31.
8. Gunen H, Tarraf H, Nemati A, Al Ghobain M, Al Mutairi S, Aoun Bacah Z. Waterpipe tobacco smoking. *Tuberk Toraks* 2016;64(1):94-6.
9. Tan WC, Lo C, Jong A, et al. Marijuana and chronic obstructive lung disease: a population -based study. *CMAJ* 2009; 180(8):814-20.
10. Yin P, Jiang CQ, Cheng KK, et al. Passive smoking exposure and risk of COPD among adults in China: the Guangzhou Biobank Cohort Study. *Lancet* 2007; 370(9589):751-7.
11. Amado CA, García-Unzueta MT, Lavin, BA, Guerra AR, Agüero J, Ramos L, Muñoz P. The Ratio Serum Creatinine/Serum Cystatin C (a Surrogate Marker of Muscle Mass) as a Predictor of Hospitalization in Chronic Obstructive Pulmonary Disease Outpatients. *Respiration*. 2018; 1–8.
12. White AJ, Gompertz S, Stockley RA. Chronic obstructive pulmonary disease . 6: The aetiology of exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2003; 58(1):73-80.
13. Li MH, Fan LC, Mao B, et al. Short-term Exposure to Ambient Fine Particulate Matter Increases Hospitalizations and Mortality in COPD: A Systematic Review and Meta-analysis. *Chest* 2016; 149(2):447-58.
14. Liu S, Zhou Y, Liu S, et al. Association between exposure to ambient particulate

- matter and chronic obstructive pulmonary disease: results from a cross-sectional study in China. *Thorax* 2017;72(9):788-95.
15. Anthonisen NR, Connett JE, Enright PL, Manfreda J, Lung Health Study Research G. Hospitalizations and mortality in the Lung Health Study. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166(3):333-9.
 16. Fletcher C, Peto R. The natural history of chronic airflow obstruction. *Br Med J*. 1977;1(6077):1645-8.
 17. The Tobacco Use and Dependence Clinical Practice Guideline Panel. A clinical practice guideline for treating tobacco use and dependence: A US Public Health Service report. *JAMA* 2000;283(24):3244-54.
 18. Pitta F, Troosters T, Spruit MA, Probst VS, Decramer M, Gosselink R. Characteristics of physical activities in daily life in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171(9):972-7.
 19. Watz H, Pitta F, Rochester CL, et al. An official European Respiratory Society statement on physical activity in COPD. *Eur Respir J*. 2014;44(6):1521-37.
 20. Garcia-Aymerich J, Lange P, Benet M, Schnohr P, Anto JM. Regular physical activity reduces hospital admission and mortality in chronic obstructive pulmonary disease: a population based cohort study. *Thorax*. 2006;61(9):772-8.
 21. Oliveira A, Pinho C, Marques A. Effects of a respiratory physiotherapy session in patients with LRTI: a pre/post-test study. *Clin Respir J*. 2015;11(6):703–712.
 22. Celli BR, Cote CG, Marin JM, et al. The body-mass index, airflow obstruction, dyspnea, and exercise capacity index in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med*. 2004;350(10):1005–1012.
 23. Troosters T, Sciurba F, Battaglia S, Langer D, Valluri SR, Martino L, et al. Physical inactivity in patients with COPD, a controlled multi-center pilot-study. *Respir Med*. 2010;104:1005–11.
 24. Swallow EB, Reyes D, Hopkinson NS, Man WD, Porcher R, Cetti EJ, Moore AJ, Moxham J, Polkey MI. Quadriceps strength predicts mortality in patients with moderate to severe chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 2007;62:115–120.
 25. Arnett T. Estructura y remodelación del hueso. En: Riancho JA, González J. *Manual práctico de osteoporosis y enfermedades del metabolismo mineral*. 1ºed. Madrid:Jarpyo 2004;1:1-6.
 26. Gómez C, García M, B J. En: Riancho JA, González J. *Manual práctico de osteoporosis y enfermedades del metabolismo mineral*. 1ºed. Madrid:Jarpyo. 2004;2:7-12.

27. Bushinsky DA. Calcium, magnesium and phosphorous: renal handling and urinary excretion. En: Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. Editado por Favus MJ. 4ª ed. American Society for Bone and Mineral Research. Lippincott Williams and Wilkins. 1999;67-74.
28. Broadus AE. Mineral balance and homesotasis. En: Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. Editado por Favus MJ. 4ª ed. American Society for Bone and Mineral Research. Lippincott Williams and Wilkins.1999;74-80.
29. Bringhurst FR, Demay MB, Kronenberg HM. Hormones and Disorders of Mineral Metabolism. En: Williams. Textbook of Endocrinology. Editorial Elsevier 2016; 28: 1254-1322.
30. Martin A, David V, Quarles LD. Regulation and Function of the FGF23/Klotho Endocrine Pathways. Physiological Reviews. 2012;92(1):131–155.
31. Razzaque MS. The FGF23–Klotho axis: endocrine regulation of phosphate homeostasis. Nature Reviews Endocrinology. 2009;5(11):611–619.
32. Berndt TJ, et al. Biological activity of FGF-23 fragments. Pflugers Arch. 2007; 454(4):615–623.
33. Shimada T, et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. J. Bone Miner. Res. 2004;19(3):429–435.
34. Yu X, Sabbagh Y, Davis SI, et al. Genetic dissection of phosphate- and vitamin D-mediated regulation of circulating Fgf23 concentrations. Bone 2005;36(6):971-977.
35. Nissenson R, Jüppner H. Parathyroid Hormone. En: Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. 8th edition. John Wiley & Sons editors 2013;26:208-214.
36. Bikle DD. Vitamin D: Production, metabolism and mechanisms of action. <http://www.endotext.com/parathyroid/parathyroid3/parathyroidframe3.htm>
37. Quesada JM, Luque F. Funciones óseas y extraóseas del sistema endocrino de la vitamina D. En: Rapado Errazti A, Díaz Curiel M, eds. Hipovitaminosis D en España. Fondo editorial FHOEMO. Madrid 2000;15 –27.
38. Huynh T, et al. The association between ketoacidosis and 25(OH)-vitamin D levels at presentation in children with type 1 diabetes mellitus. Pediatr Diabetes, 2009. 10(1):8-43.
39. Ortega RM, et al. Preliminary data about the influence of vitamin D status on the loss of body fat in young overweight/obese women following two types of hypocaloric diet. Br J Nutr. 2008.100(2):269-72.

40. Poduje S, I Sjerobabski-Masnec, S Ozanic-Bulic. Vitamin D-the true and the false about vitamin D. *Coll Antropol.* 2008;32 Suppl 2:159-62.
41. Álvarez L. Remodelado óseo. En: Mauri M, Álvarez E, Berlanga E. Actualización en la exploración bioquímica del metabolismo fosfocálcico. 1° ed. Barcelona: comité de publicaciones de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular;2007.119-133.
42. Frederick R. Singer MD, David R. Eyre. Uso de marcadores bioquímicos de recambio óseo en la práctica clínica. *Cleveland Clinic Journal of Medicine.*2008;75(10):739-750.
43. Afsarimanesh N, Mukhopadhyay SC, Kruger M. Sensing technologies for monitoring of bone-health: A review. *Sensors and Actuators A: Physical.* 2018;(274):165–178.
44. Herrmann M, Seibel M. The amino- and carboxyterminal cross-linked telopeptides of collagen type I, NTX-I and CTX-I: A comparative review. *Clinica Chimica Acta.*2008;393(2),57–75.
45. Vasikaran S et al. Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for international reference standards. *Osteoporosis Int* 2011;22(2):391-420.
46. Vasikaran S et al. International Osteoporosis Foundation and International Federat of Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine Position on bone marker standards in osteoporosis. *Clin Chem Lab Med* 2011;49(8):1271-1274.
47. Galofré Alvaro N. Enfermedad pulmonar obstructiva crónica y osteoporosis. *Seminarios de La Fundación Española de Reumatología.* 2009;10(4):118–123.
48. Casaburi R, Zuwallack R. Pulmonary rehabilitation for manegement of chronic obstructive pulmonary disease.*N Engl J Med.* 2009;360(13):1329-1335
49. Tamaki J, Iki M, Fujita Y, Kouda K, Yura A, Kadowaki E, et al. Impact of smoking on bone mineral density and bone metabolism in elderly men: The Fujiwara-kyo Osteoporosis Risk in Men (FORMEN) study. *Osteoporos Int.* 2011;22:133–41.
50. Huuskonen J, Väisänen SB, Kröger H, Jurvelin C, Bouchard C, Alhava E, et al. Determinants of bone mineral density in middle aged men: A population-based study. *Osteoporos Int.* 2000;11:702–8.
51. Lau EM, Leung PC, Kwok T, Woo J, Lynn H, Orwoll E, et al. The determinants of bone mineral density in Chinese men – Results from Mr. Os (Hong Kong), the first cohort study on osteoporosis in Asian men. *Osteoporos Int.* 2006;17:297–303.
52. King DA, Cordova F, Scharf SM. Nutritional aspects of chronic obstructive disease.*Pro M Thorac Soc.* 2008;5(4):519-523.
53. Kir S, Komaba H, Garcia AP, Economopoulos KP, Liu W, Lanske B et al. El receptor de PTH / PTHrP media la caquexia en modelos de insuficiencia renal y cáncer. *Metabolismo celular.* 2016;23(2):315–323.

54. Cypess AM, White AP, Vernochet C, Schulz TJ, Xue R, Sass CA, et al. Anatomical localization, gene expression profiling and functional characterization of adult human neck brown fat. *Nat. Med.* 2013;19(5):635–639.
55. Kir S, White JP, Kleiner S, Kazak L, Cohen P, Baracos VE et al. Tumour-derived PTH-related protein triggers adipose tissue browning and cancer cachexia. *Nature.* 2014;513(7516):100–104.
56. Forli L, Halse J, Haug E, Bjortuft O, Vatn M, Kofstad J, et al. Vitamin D deficiency, bone mineral density and weight in patients with advanced pulmonary disease. *J Intern Med.* 2004;256(1):56–62.
57. Janssens W, Bouillon R, Claes B, Carremans C, Lehouck A, Buyschaert I, et al. Vitamin D deficiency is highly prevalent in COPD and correlates with variants in the vitamin D-binding gene. *Thorax.* 2010;65(3):215–20.
58. Persson LJP, Aanerud M, Hiemstra PS, Hardie JA, Bakke PS, Eagan TM. Chronic obstructive pulmonary disease is associated with low levels of vitamin D. *PLoS One.* 2012;7:e38934.
59. Andersson I, Grönberg A, Slinde F, Bosaeus I, Larsson S. Vitamin and mineral status in elderly patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Resp J.* 2007;1:23–9.
60. Kunisaki KM, Niewoehner DE, Singh RJ, Connett JE. Vitamin D status and longitudinal lung function decline in the Lung Health Study. *Eur Respir J.* 2011;37(2):238–43.
61. Skaaby T, Husemoen LL, Thuesen BH, Pisinger C, Jørgensen T, Fenger RV, et al. Vitamin D status and chronic obstructive pulmonary disease: a prospective general population study. *PLoS One.* 2014;9(3):e90654.
62. Afzal S, Lange P, Bojesen SE, Freiberg JJ, Nordestgaard BG. Plasma 25-hydroxyvitamin D, lung function and risk of chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax.* 2014;69(1):24–31.
63. Jackson AS, Shrikrishna D, Kelly JL, Kemp SV, Hart N, Moxham J, et al. Vitamin D and skeletal muscle strength and endurance in COPD. *Eur Respir J.* 2013; 41(2):309–16.
64. García de Tena J, El Hachem Debek A, Hernández Gutiérrez C, Izquierdo Alonso JL. Papel de la vitamina D en enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma y otras enfermedades respiratorias. *Archivos de Bronconeumología.* 2014;50(5):179–184.
65. Park J-H, Park HK, Jung H, Lee S-S, Koo H-K. Parathyroid Hormone as a Novel Biomarker for Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Korean National Health and Nutrition Examination Survey. *PLoS ONE.* 2015;10(9): e0138482.

66. García-Río F, Calle M, Burgos F, et al. Spirometry. Spanish Society of Pulmonology and Thoracic Surgery (SEPAR). Arch Bronconeumol. 2013;49(9):388–401.
67. ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. Am J Respir Crit Care Med. 2002;166(1):111–7.
68. Gimeno-Santos E, Frei A, Steurer-Stein C, De Batlle J, Rabinovich RA, Raste Y, et al. Determinants and outcomes of physical activity in patients with COPD: a systematic review on behalf of PROactive consortium. Thorax. 2014;69(8):731–9.
69. Rabinovich RA, Louvaris Z, Raste Y, Langer D, Van Remoortel H, Giavedoni S, et al. Validity of physical activity monitors during daily life in patients with COPD. Eur Respir J. 2013;42(5):1205–15.
70. Buskermolen J, van der Meijden K, Furrer R, Mons DJ, van Essen HW, Heijboer AC, Lips P, et al. Effects of different training modalities on phosphate homeostasis and local vitamin D metabolism in rat bone. PeerJ. 2019;7:e6184.
71. De Torres JP, Marin JM, Martinez-Gonzalez C, de Lucas-Ramos P, Mir-Viladrich I, Cosío B, et al; COPD History Assessment in Spain (CHAIN) Cohort*. Clinical application of the COPD assessment test: longitudinal data from the COPD History Assessment in Spain (CHAIN) cohort. Chest. 2014;146(1):111-122.
72. Cepelak I, Dodig S, Romic D, Ruljancic N, Popovic-Grle S, Malic A. Enzyme catalytic activities in chronic obstructive pulmonary disease. Arch Med Res. 2006;37(5):624-9.
73. Janssens, W., Mathieu, C., Boonen, S., & Decramer, M. Vitamin D Deficiency and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Vitamins & Hormones, 2011; 86: 379–399.